

CIRAD-EMVT
Campus de Baillarguet
TA 30
34398 MONTPELLIER
Cedex 5

CIRAD-Dist
UNITÉ BIBLIOTHÈQUE
Baillarguet

Université Montpellier II
UFR Sciences
Place Eugène Bataillon
34095 MONTPELLIER
Cedex 5

**DIPLÔME D'ETUDES SUPERIEURES SPECIALISEES
PRODUCTIONS ANIMALES EN REGIONS CHAUDES**

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

**Paramètres chez les poissons qui
varient avec l'environnement et qui
peuvent être considérés comme des
critères de traçabilité**

MOREAU CHRYSTEL

Année universitaire 2003-2004

RÉSUMÉ

Les Etats doivent s'approvisionner sur le marché mondial pour satisfaire une demande toujours croissante de poissons de la part des consommateurs. Cependant, la plupart des systèmes de traçabilité ne sont pas suffisants pour reconstituer l'histoire d'un produit et il est nécessaire de posséder des indicateurs et des marqueurs afin de pouvoir assurer une traçabilité complète des poissons.

Des analyses de biométrie ou des différences morphologiques entre poissons permettent de déceler quelques outils pour la traçabilité. Par exemple, l'observation de la nageoire caudale, l'analyse des différences de corpulence, l'étude des écailles et des otolithes donnent de multiples informations pouvant être utiles pour tracer des poissons.

Les paramètres rhéométriques consistent à évaluer, chez les poissons, la texture et la fermeté de la chair. Ces deux éléments peuvent, par leurs variations, donner une indication sur le système d'élevage et plus particulièrement l'alimentation, l'exercice et l'état *post-mortem* des poissons. L'espèce joue un rôle important dans la variation de ces paramètres par la distribution et la composition des fibres musculaires.

Les analyses organoleptiques ou l'évaluation sensorielle fournissent aussi des informations sur le système d'élevage et notamment par l'étude des goûts et des odeurs (géosmine et 2-méthylisobornéol) et de la couleur (pigments caroténoïdes) de la chair des poissons.

La composition chimique de la chair varie considérablement avec l'environnement des poissons et ces facteurs de variations sont liés à la saison, l'alimentation et l'espèce. Pour déceler ces variations, il existe quelques outils comme les isotopes lourds, les lipides, la composition et le profil en acides gras. Il semble que ce soient des marqueurs pertinents pour la traçabilité des poissons.

Enfin, les analyses microbiologiques sont des outils tout à fait performants pour assurer la traçabilité. En effet, la microbiologie classique, l'analyse ADN des micro-organismes et l'antibiorésistance sont des éléments pertinents pour déterminer l'histoire des poissons.

Mots clés : poisson, pisciculture, traçabilité, biométrie, rhéométrie, caractère organoleptique, pigment, composition chimique, analyse microbiologique, filet, muscle.

SOMMAIRE

	PAGES
INTRODUCTION	1
TRACABILITÉ	2
I. Paramètres biométriques	3
I.1 Contexte	3
I.2 Nageoire caudale	3
I.3 Corpulence	4
I.4 Ecailles	4
I.5 Etude des otolithes	6
II. Paramètres rhéométriques	10
II.1 Contexte	10
II.2 Paramètres G et mm	10
II.3 Rendement de filetage	10
II.4 Fermeté	11
II.5 Rigor-mortis	12
II.6 Composition et distribution des fibres musculaires	12
III. Paramètres organoleptiques	13
III.1 Contexte	13
III.2 Goût et odeur	13
III.2.1 Lieu de pêche	13
III.2.2 Géosmine et MIB	13
III.3 Couleur	14
III.3.1 Effet du système d'élevage	14
III.3.2 Effet des pigments	16
III.3.3 Effets des AGPI et de la vitamine E	17
IV. Composition chimique	19
IV.1 Composition corporelle brute	19
IV.1.1 Effet des variations saisonnières	19

<i>IV.1.2 Effet de la température</i>	20
IV.2 Profil de protéines	21
IV.3 Profil lipidique et acide gras	21
<i>IV.3.1 Dépôt lipidique</i>	21
<i>IV.3.2 Teneur en lipides</i>	22
<i>IV.3.3 Composition en acides gras</i>	23
IV.4 Extraits azotés	25
IV.5 Vitamines	25
IV.6 Isotopes lourds	26
V. Paramètres microbiologiques	28
V.1 Flore microbienne	28
V.2 ADN des micro-organismes	29
<i>V.2.1 PCR/RFLP</i>	29
<i>V.2.2 DGGE</i>	29
V.3 Antibiorésistance	30
CONCLUSION	32
BIBLIOGRAPHIE	33

INTRODUCTION

D'après la FAO (*LAZARD, comm. pers.*), la pêche représentait 92 millions de tonnes en 2001 et était en augmentation de 1,4 % par an depuis 1970. L'aquaculture produit 48,2 millions de tonnes, soit 2,5 fois plus que dans les années 90. La consommation individuelle moyenne est de 15,7 kg par an au niveau mondial et de 21 kg par an en France, l'aquaculture contribuant à 22,2 %. Elle est en augmentation constante et cela traduit une reconnaissance de la « valeur santé » de ces aliments, notamment dans la prévention et le traitement des maladies cardiovasculaires. En effet, un apport alimentaire régulier en poissons a un effet hypercholestérolémiant chez l'homme car ils sont très riches en acides gras polyinsaturés de la série $\omega 3$. Leurs protéines sont aussi hautement digestibles et ont une valeur biologique élevée.

Pour satisfaire cette demande, les États doivent s'approvisionner de plus en plus sur le marché mondial, ce qui comporte des risques en matière de qualité, d'hygiène ou de santé humaine. Face à des pratiques et des législations différentes, les États doivent pouvoir reconstituer l'histoire d'un produit et connaître toutes les transformations qu'il a subies afin de minimiser et prévenir les risques pour le consommateur. Cela passe par la traçabilité, c'est-à-dire l'enregistrement de toutes les informations et données le long de l'itinéraire de production ou du processus de pêche. À l'heure actuelle, de nombreux systèmes de traçabilité se résument à l'inscription du nom du producteur et de l'espèce sans préciser les conditions d'élevage et de transformation. Une simple traçabilité administrative ne suffit donc pas et il est nécessaire de disposer d'indicateurs ou de marqueurs complémentaires permettant de reconstituer la véritable histoire du poisson.

Ce rapport en identifie un certain nombre et évalue la façon dont ils pourraient être utilisés pour reconstituer la traçabilité du produit.

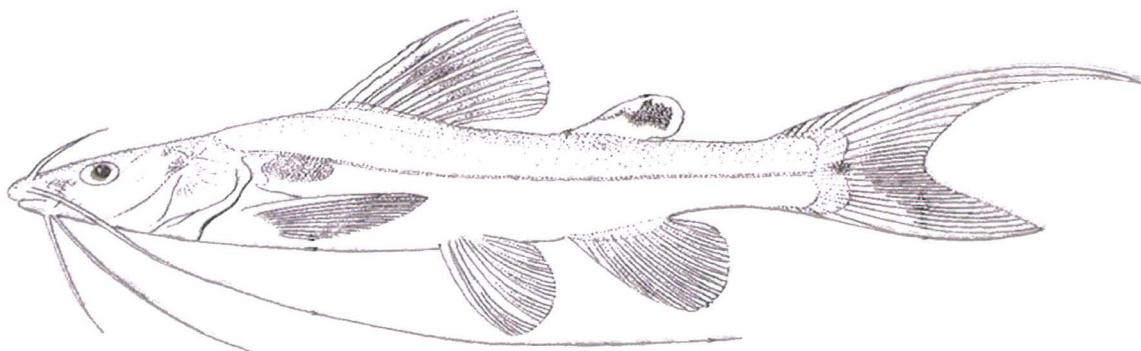


Figure 1 : Dessin d'un poisson chat

TRACABILITÉ

➡ **La traçabilité sera une exigence réglementaire en Europe à partir du 1^{er} janvier 2005 (règlement européen 178/2002).**

Définitions

Selon la version de la norme ISO 9000-2000, la traçabilité est « l'aptitude à retrouver l'historique, la mise en œuvre ou l'emplacement de ce qui est examiné. Dans le cas d'un produit, elle peut être liée à l'origine des matériaux et composants, l'historique de réalisation, la distribution et l'emplacement du produit après livraison ».

Au sens de la norme ISO 8402, la traçabilité est « l'aptitude à retrouver l'historique, l'utilisation ou la localisation d'une entité (par exemple, un végétal, un animal, une denrée alimentaire) au moyen d'identifications enregistrées ».

Etablir la traçabilité d'un produit consiste donc pour les opérateurs à avoir la capacité de transférer les informations relatives à ce produit (au minimum son identifiant), à chaque cession ou transaction, sous la forme d'un étiquetage approprié ou de documents d'accompagnement, et à enregistrer et conserver les informations acheminées.

Qu'elle soit « descendante », c'est-à-dire qu'elle permette de connaître la destinée de cette entité, ou qu'elle soit « ascendante », c'est-à-dire qu'elle permette de retrouver l'origine et l'historique de ladite entité, elle est considérée comme un outil de gestion de la qualité et un outil d'information au service des filières agroalimentaires, dont les Pouvoirs publics soutiennent le développement dans une finalité de meilleure organisation de la logistique, de maîtrise des non-conformités (rappels des lots), de promotion de la qualité et de l'origine (Label rouge, Agriculture biologique, etc.), de transparence des marchés (étiquetage des viandes bovines), ou bien entendu, de gestion des alertes alimentaires. (MONTET, 2004)

Objectifs

- **Fournir des informations fiables** pour l'étiquetage des denrées (protection contre des pratiques déloyales ou trompeuses),
- **Renforcer la sécurité** des denrées (conservation de données pour suivre des effets à long terme et retirer du marché des produits susceptibles de présenter un risque),
- **Améliorer la qualité** (par analyse de non-conformité du produit).

La traçabilité n'est pas une fin en soi, il faut définir et préciser par voie législative et réglementaire les conditions de mise en œuvre de la traçabilité.

« Rapport et avis du Conseil national de l'alimentation sur la traçabilité des denrées alimentaires »

I. Paramètres biométriques

I.1 Contexte

La biométrie est une science appliquant les méthodes de mesure et de statistiques aux phénomènes biologiques.

L'environnement et le milieu dans lequel vit un poisson influencent sa croissance et favorisent le développement de certaines parties du corps et en inhibent d'autres parties. Il existe donc des facteurs environnementaux responsables de certaines morphologies d'un poisson.

I.2 Nageoire caudale

Chez certaines espèces de poisson, comme *Pangasius hypophthalmus*, la nageoire caudale semble avoir une morphologie différente lorsque l'élevage se fait en cage ou en étang (**Figure 2** et **Figure 3**).



Figure 2 : Photo de la nageoire caudale d'un *Pangasius hypophthalmus* élevé en étang



Figure 3 : Photo de la nageoire caudale d'un *Pangasius hypophthalmus* élevé en cage

L'observation de la nageoire caudale montre bien une différence de morphologie chez les poissons issus des deux systèmes d'élevage : la nageoire du poisson provenant de l'étang est de forme lancéolée alors qu'elle a une forme de cœur sur celui élevé en cage.

Cette observation a été faite sur l'espèce *Pangasius hypophthalmus*, dans un élevage au Vietnam. En tout, 20 poissons ont été observés dont 10 en cage et 10 en étang et la longueur de la nageoire caudale a été mesurée (flèches indiquées sur les photos). La différence des moyennes exprimées en pourcentage de la longueur totale était significative au seuil de 5%.

L'absence de lésion indique qu'il ne s'agit pas d'une érosion de la nageoire mais d'une croissance limitée, expliquée par un éventuel confinement et une densité de poissons importante au sein de la cage (GUIBERT, 2003).

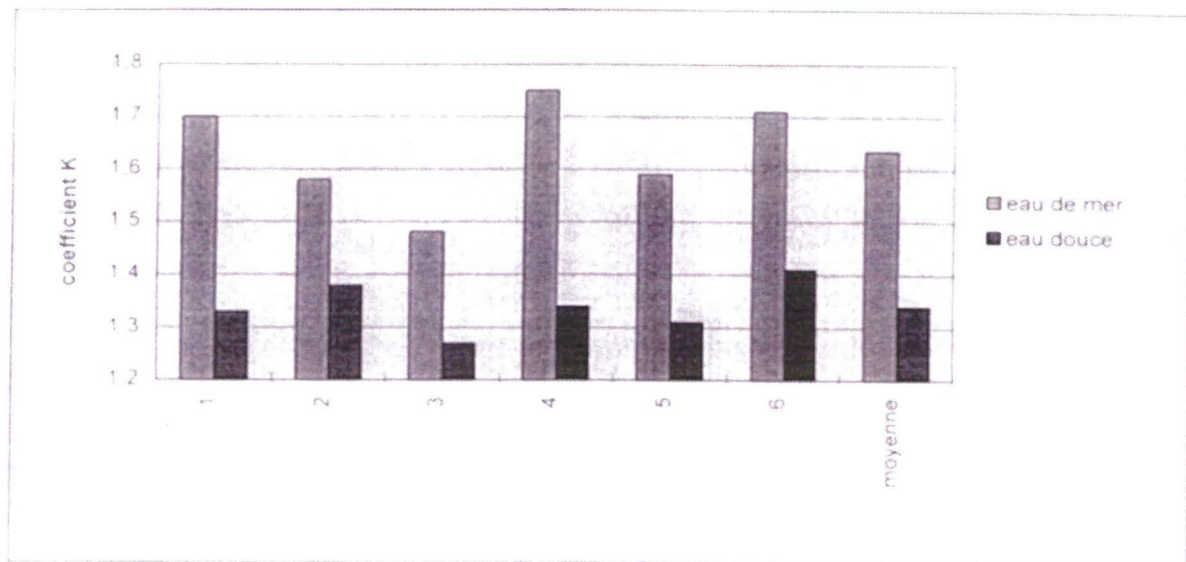
Il existe donc bien un outil morphologique permettant de différencier les structures d'élevage en cage et en étang, mais cette observation n'ayant pas fait l'objet d'une observation sur un nombre statistiquement représentatif de poissons, ne doit pas encore être considéré comme un résultat acquis mais comme une piste prometteuse.

I.3 Corpulence

L'élevage en mer permet d'obtenir des poissons plus corpulents qu'en eau douce chez les espèces de la famille des Salmonidés.

Des expériences menées sur la truite « arc en ciel » ont permis de comparer la corpulence d'individus élevés dans des eaux de salinité différente.

6 groupes de truites ont subi les expérimentations et chaque groupe a été scindé en deux avec une partie grossissant en eau de mer et l'autre partie restant en eau douce. Les résultats ont été les suivants (Figure 4) :



source André, 19

Figure 4: Histogramme présentant la variation du coefficient K dans les 6 groupes de truites « arc en ciel »

Le coefficient K ou coefficient de condition, représente la corpulence du poisson c'est-à-dire l'ampleur de son volume. Il est exprimé en fonction du poids de l'animal en kilogrammes et en fonction de sa taille en millimètres.

L'observation de la figure 3 montre que les animaux élevés en mer sont plus corpulents que ceux restés en eau douce. Cette technique a été adoptée par certains salmoniculteurs du nord de l'Europe ainsi que par certains truiticulteurs français. (BESANCENOT *et al.*, 1998)

Chez les Salmonidés, il est donc possible de faire la différence entre les poissons élevés en milieu salin et ceux élevés en eau douce par leur différence de corpulence pour un même âge et avec une alimentation identique.

I.4 Écailles

Dénombrer les marques naturelles présentes sur les poissons comme les écailles donne une indication sur la croissance du poisson. En général, ce sont les *annuli*, c'est-à-dire les marques révélant un arrêt de croissance sur les écailles, qui servent à déterminer l'âge du poisson.

Une telle étude a été réalisée sur des poissons de différentes espèces dans la retenue Tapoa au Burkina Faso, sur trois années successives (1989, 1990, 1991).

Les photos suivantes, réalisées sur microfilms, représentent des écailles des espèces *Tilapia zillii*, *Oreochromis niloticus*, et *Labeo coubie* (Figure 5, Figure 6, Figure 7, Figure 8, Figure 9).

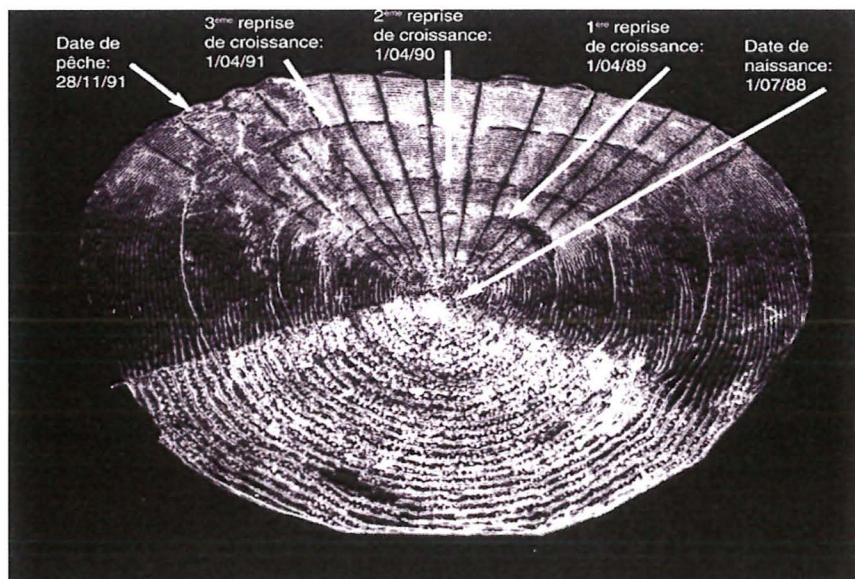


Figure 5 :

*Ecaille de Tilapia zillii
du Sourou.*

Présence de 3 *annuli*
très nets.

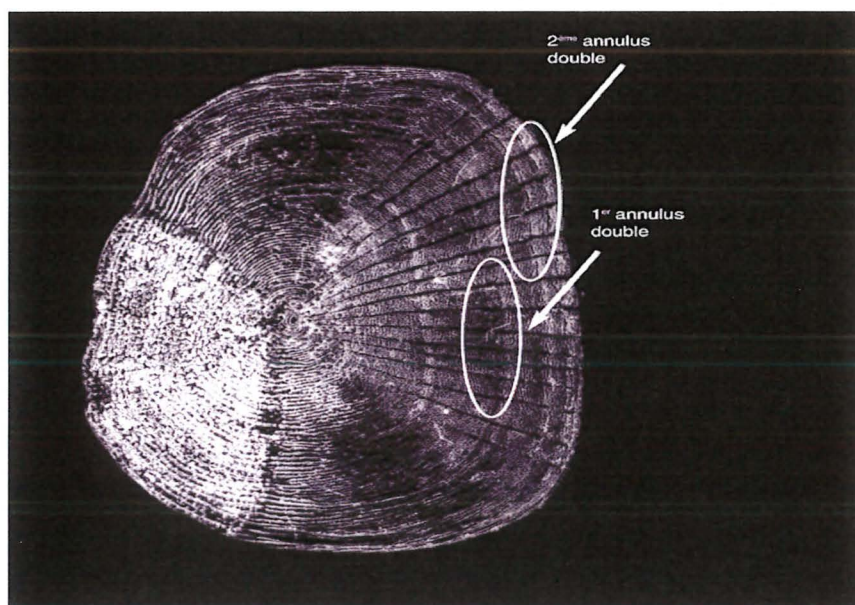


Figure 6 :

*Ecaille
d'Oreochromis
niloticus de la retenue
Tapoa.*

Présence de 5 *annuli*
nets dont 4 se
présentent sous en 2
annuli doubles.

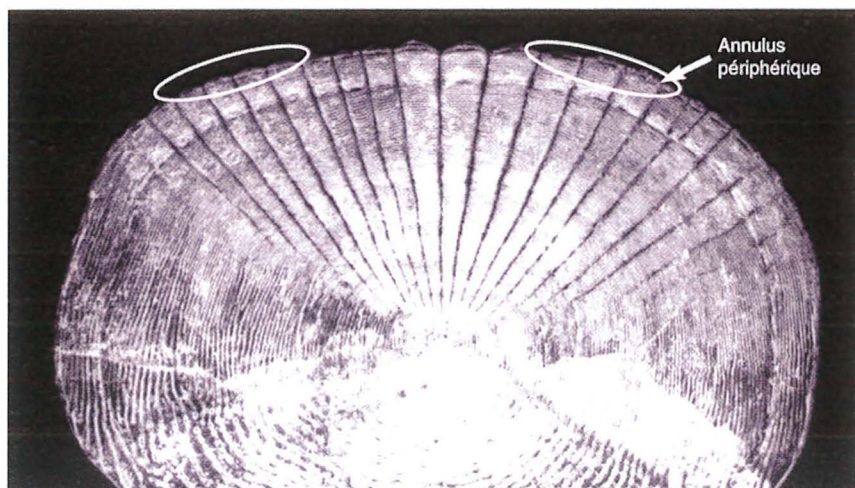


Figure 7:

*Ecaille
d'Oreochromis
niloticus de la retenue
Tapoa.*

Présence de 4 *annuli*
dont un périphérique
prouvant la très
récente reprise de
croissance.

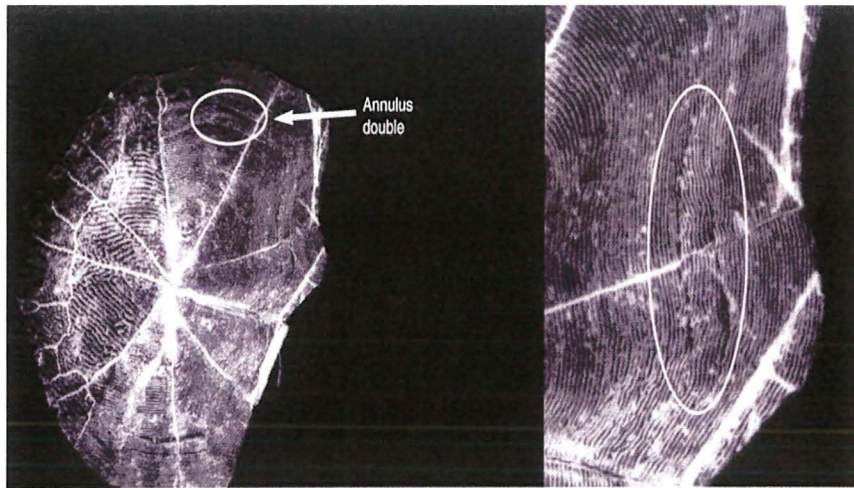


Figure 8 :

Ecaille de Brycinus nurse de la retenue Petit Balé.

1 *annulus* double.

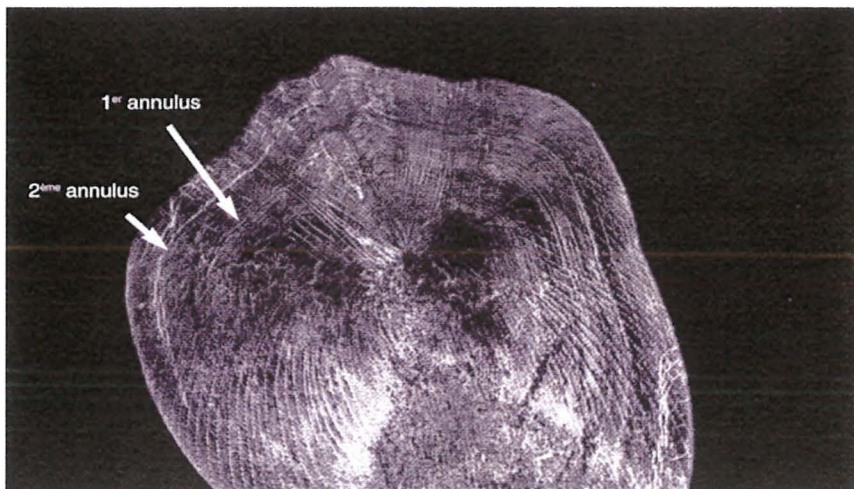


Figure 9:

Ecaille de Labeo coubie de la retenue Petit Balé.

Présence de 2 *annuli*.

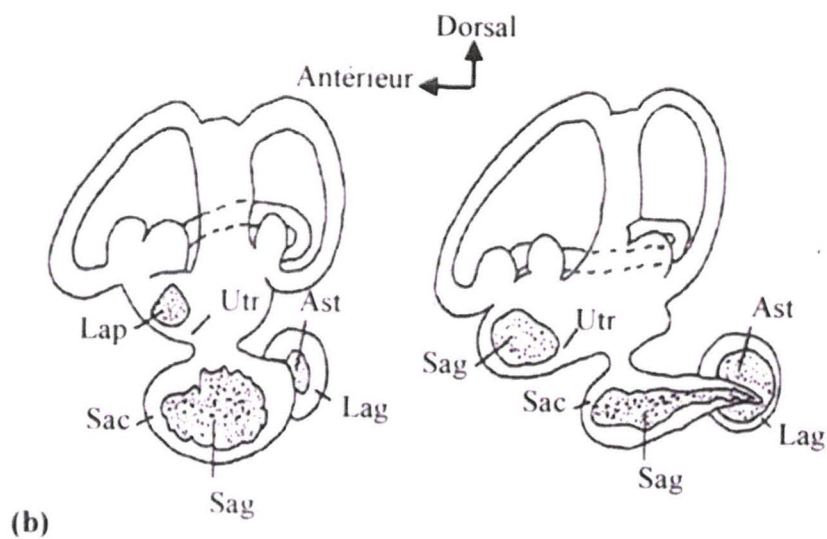
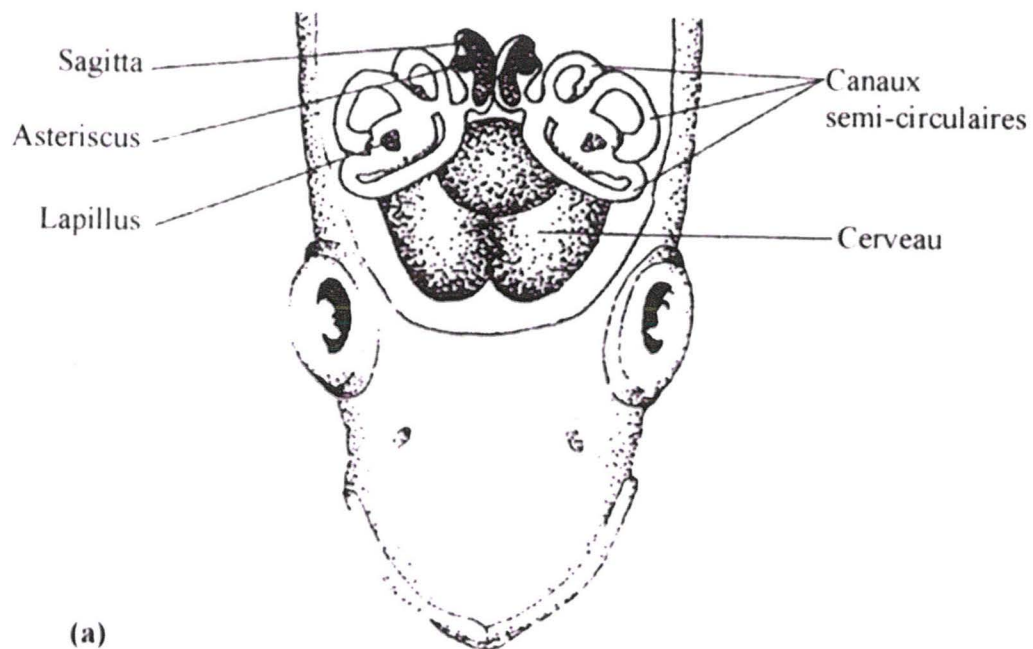
Dans cette étude, la lecture des *annuli* a permis de détecter un arrêt de croissance lors de la saison fraîche à cause d'une diminution de la température. La reprise de la croissance s'est accompagnée de l'apparition effective d'un nouvel *annulus* sur le bord de l'écaille lors du réchauffement des eaux survenant en mars ou avril. (BAIJO *et al.*, 1994)

L'interprétation des *annuli* permet d'observer les différentes étapes de la croissance d'un poisson et ses aléas liés aux conditions du milieu et peut permettre de comparer la croissance des mêmes espèces en des lieux différents.

I.5 Etude des otolithes

Les otolithes ou « pierres de l'oreille » sont des concrétions qui font partie de l'oreille interne des Téléostéens (Figure 10). Ils interviennent dans les mécanismes de l'audition, dans les réflexes d'équilibration et dans la sensation de la gravité. La mise en évidence de leurs propriétés piézo-électriques suggère aussi leur rôle dans les mécanismes de perception de la profondeur et des fréquences des ondes sonores.

L'otolithe est composé d'une portion minérale et d'une portion protéique. Les éléments minéraux sont regroupés en 3 catégories : les éléments majeurs (calcium, carbone et oxygène) présents à 99 %, les éléments mineurs (Na, Sr, K, S, Si, Cl et P) avec une concentration supérieure à 100 ppm et les éléments-traces dont la concentration est inférieure à 100 ppm (Zn, B, Fe, Hg, Mn, Ba, Ni, Cu, Al, Br, Li, Pb, As, Se, Ag, Co, Cd, U, Cs).



- (a) vue dorsale de l'appareil vestibulaire d'un Téléostéen après ouverture du crâne
 (b) Localisation des otolithes dans le système de labyrinthe d'un Téléostéen typique d'un Ostariophyse.
 Ast : *asteriscus* ; Lag : vestibule lagenaire (lagena) ; Lap : *lapillus* ; Sac : vestibule sacculaire (sacculle) ; Sag : *sagitta* ; Utr : vestibule utriculaire (utricule)

Figure 10 : Anatomie de l'appareil vestibulaire (SECOR, 1992)

La portion protéique est composée d'une fraction hydrosoluble et d'une autre non hydrosoluble mais toutes deux possèdent de nombreux acides aminés.

La composition chimique de l'otolithe et notamment l'importance de la matrice protéique varie avec l'âge des individus chez *Dicentrarchus labrax*, suggérant ainsi que la matrice protéique pourrait jouer un rôle variable selon l'époque de formation. (MORALES NIN, 1983)

Les otolithes commencent à se former à partir d'une ou de plusieurs sphérules protéiques et la croissance se fait ensuite par l'apposition superficielle de matières organiques et minérales sous forme de couches concentriques ou microstructures. La régularité du dépôt des microstructures est parfois perturbée par des discontinuités structurales et cela est interprété comme une réponse à un stress externe (hypoxie, température sous optimale, transport...).

L'utilisation de ces structures se fait depuis une trentaine d'années, comme indicateur de croissance car il existe une forte corrélation entre la longueur des rayons de l'otolithe et la longueur des poissons (FAGADE, 1974), mais surtout dans l'estimation de l'âge des individus.

L'analyse des caractéristiques externes des otolithes (forme et ornements) et plus particulièrement des *sagittae* (Figure 11) permet de regrouper les espèces d'une même famille et celles appartenant à des familles phylogénétiquement proches.

L'analyse des critères morphologiques (longueur, épaisseur, périmètre, circularité, rectangularité) met en évidence des différences géographiques au sein d'une même espèce et laisse ainsi envisager la possibilité de discriminer des individus de provenances différentes à partir de leurs otolithes (MOUNAIX *et al.*, 1994). La possibilité d'identifier les espèces de poissons à partir de leurs otolithes trouve aussi son application en systématique et en paléontologie.

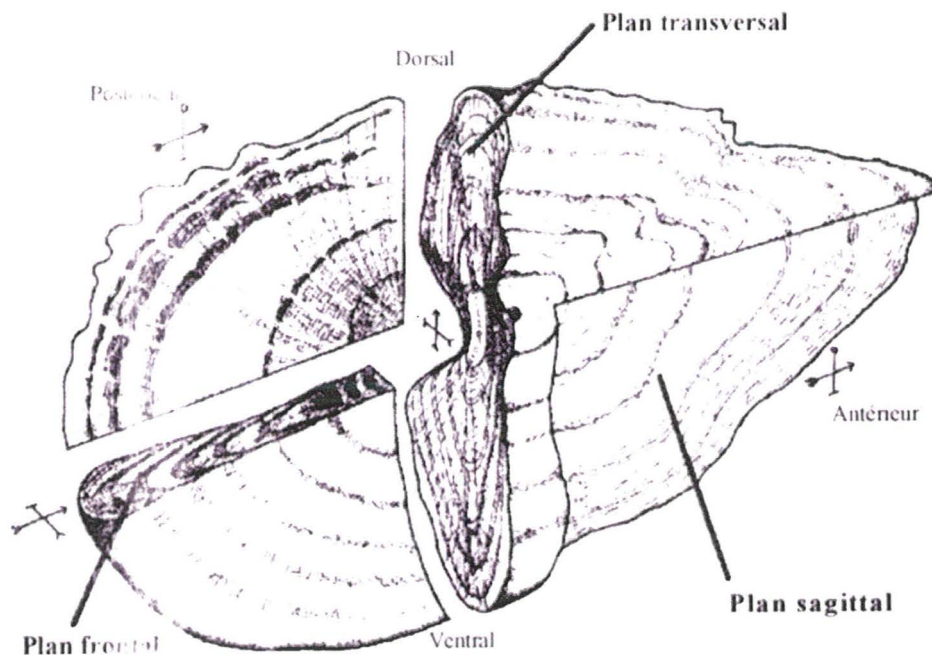


Figure 11: Différents plans d'une coupe d'une sagitta (PANELLA, 1980)

La microchimie des otolithes est essentiellement axée sur l'analyse des éléments mineurs comme le strontium, le lithium, le magnésium, le manganèse et des éléments traces comme le fer, le baryum et le zinc. En effet, les cations divalents qui entrent en compétition avec le calcium sont ainsi substitués à ce dernier selon une proportion reflétant leurs teneurs dans le milieu ambiant. Par exemple, chez *Oreochromis niloticus*, le strontium incorporé dans la *sagitta* reflète sa présence dans l'eau ambiante car elle contribue pour 75% de calcium total et 88% du strontium total (*FARRELL et al., 1996*). Les exemples d'applications sont nombreux et on peut dire que la microchimie des otolithes constitue un des plus grand domaine d'intérêt. (*MALAM MASSOU, 2002*)

Certains antibiotiques comme les tétracyclines laissent des bandes sur les otolithes qui apparaissent fluorescentes lorsqu'elles sont exposées à une lumière ultraviolette. (*HASTEIN et al., 2001*) L'observation des otolithes permet donc de reconstituer une partie de l'histoire médicale des poissons.

Les otolithes sont des éléments permettant de réaliser une traçabilité presque complète d'un poisson en reconstituant son histoire, son âge, son milieu de croissance avec une grande précision. Cependant, les analyses comme la microchimie des otolithes ont un coût extrêmement élevé et cela constitue certainement leur principale limite.

II. Paramètres rhéométriques

II.1 Contexte

La rhéométrie consiste à étudier les propriétés d'écoulement ou de déformation d'un élément. Elle concerne le poisson et sa chair par sa texture et sa fermeté et est évaluée par un rhéomètre. Celui-ci mesure la force nécessaire pour briser un échantillon et donc évaluer la fermeté ainsi que la déformation, en millimètres, par application d'une pression.

La chair de poisson est organisée en feuillets musculaires séparés par du tissu conjonctif dont le nombre et la distribution dépendent de l'espèce, du statut nutritionnel du poisson et de la saison.

II.2 Paramètres G et mm

Des analyses de rhéométrie ont été réalisées sur 5 *Pangasius bocourti* (notés B1) et 5 *P.hypophthalmus* (notés C1) issus d'un élevage en cage vietnamien. La force **G** nécessaire pour briser un échantillon et la déformation en **mm** par application d'une pression ont été mesurés (Tableau 1) :

Tableau 1 : Résultat des analyses rhéométriques selon l'espèce pour des individus élevés en cages

	Code unité	N	Moyenne	Ecart-type	Statistique du test d'égalité des moyennes
Rhéométrie G	C1	5	401,4	37,9	0,058
	B1	5	344,4	43,5	
Rhéométrie mm	C1	5	10,6	1,8	0,016
	B1	5	7,6	0,8	

Nous voyons que la fermeté « G » reste non significative mais la moyenne pour les *P. hypophthalmus* de cage (C1) est supérieure à la moyenne générale (380,3). Il existe donc bien une différence de texture de la chair entre les deux espèces. (GUIBERT, 2003)

La structure de la chair de poisson varie bien avec l'espèce.

II.3 Rendement de filetage

Une étude a été réalisée au Vietnam sur l'espèce *Pangasius bocourti* (ca ba sa) et plus particulièrement sur le rendement de filetage et sa variation par rapport à la structure d'élevage (Tableau 2). Le rendement de filetage est le rapport entre le poids de filets parés et le poids total du poisson.

Tableau 2: Moyenne des rendements de filetage en fonction des unités d'élevage

Code de l'unité	Moyenne	Ecart-type
ca ba sa	23,9	1,7
C1	30,0	1,0
D1	29,9	1,3
E1	33,0	1,5
E2	31,3	1,3
E3	31,6	1,2
E4	32,4	2,0
E5	32,5	1,8
E6	30,9	1,1
E8	29,7	1,9

C1 : Elevage en cage
 D1 : Elevage en enclos
 E1 : Elevage en étang moyennement renouvelé
 E2 : Elevage en étang moyennement renouvelé
 E3 : Elevage en étang moyennement renouvelé
 E4 : Elevage en étang bien renouvelé
 E5 : Elevage en étang bien renouvelé
 E6 : Elevage en étang peu renouvelé
 E8 : Elevage en étang bien renouvelé

D'après ce tableau, la variabilité entre les structures d'élevage semble faible mais il n'y a pas de différences statistiques suffisantes pour regrouper les structures entre elles. (GUIBERT, 2003)

Le type d'élevage ne semble pas, dans cette expérience, influencer significativement le rendement de filetage.

II.4 Fermeté

Les conditions d'élevage et plus particulièrement l'exercice jouent un rôle dans la texture du poisson et sur la fermeté.

Des analyses de fermeté de la chair ont été réalisées sur des poissons-chats *Pangasius* élevés au Vietnam où plusieurs poissons ont été pêchés dans des structures d'élevage différentes : cages, enclos, étangs (Tableau 3).

Tableau 3: Analyses rhéométriques des poissons chats par structures d'élevage

Code unité	Variable	N	Moyenne	Ecart-type
B1	G	5	344,40	43,49
	Mm	5	7,56	,77
C1	G	5	401,40	37,90
	Mm	5	10,58	1,80
D1	G	5	489,20	46,36
	Mm	5	10,06	1,55
E1	G	5	419,20	29,20
	Mm	5	10,12	1,34
E2	G	5	419,20	29,20
	Mm	5	10,12	1,34
E3	G	10	362,00	57,78
	Mm	10	10,40	1,58
E4	G	10	363,90	59,32
	Mm	10	9,40	1,27
E5	G	5	403,60	49,39
	Mm	5	9,86	,96
E6	G	10	340,22	56,39
	Mm	10	10,01	1,26
E8	G	10	327,40	40,73
	Mm	10	9,67	1,43

B1 : Elevage en cage
C1 : Elevage en cage
D1 : Elevage en enclos
E1 : Elevage en étang moyennement renouvelé
E2 : Elevage en étang moyennement renouvelé
E3 : Elevage en étang moyennement renouvelé
E4 : Elevage en étang bien renouvelé
E5 : Elevage en étang bien renouvelé
E6 : Elevage en étang peu renouvelé
E8 : Elevage en étang bien renouvelé

Il semble que la fermeté soit la plus élevée chez les poissons issus de l'enclos (**D1**) et cela est peut-être lié à une nage dans le courant. Pourtant, on constate que les poissons élevés en étang moyennement renouvelé (**E1** et **E2**) sont plus fermes que ceux élevés en cages (**C1** et **B1**). Nous pourrions supposer qu'en milieu peu renouvelé et donc sous oxygéné, la nage est verticale pour monter prendre l'oxygène en surface. (GUIBERT, 2003)

La fermeté de la chair d'un poisson varie bien avec l'exercice de celui-ci, et ce paramètre pourrait servir d'indicateur quant à la provenance d'un poisson de telle ou telle structure d'élevage, sachant que la fermeté de la chair augmente avec l'exercice fourni.

II.5 Rigor-mortis

La mort du poisson et les conditions qui ont occasionné cette mort jouent un rôle important sur la texture du produit et les transformations technologiques suivantes.

Immédiatement après la mort, le muscle du poisson est totalement détendu et sa texture est élastique et souple pendant quelques heures, après quoi le muscle se contracte. Le corps se raidit donc et le poisson est alors en état de *rigor-mortis*. Après un jour ou plus, la *rigor* disparaît et le muscle est à nouveau détendu et donc plus souple mais moins élastique.

Le rapport apparition/disparition de la *rigor* varie selon les espèces et est affecté par la température, les conditions de la mort et l'état du poisson avant la mort.

Cet état post-mortem et ce qui s'en suit varient avec les conditions d'élevage de ce poisson et plus particulièrement son alimentation. En effet, un filet de poisson est composé à 80 % de d'eau et de graisse et plus il est gras, plus les processus de dégradation de la chair sont rapides. (HUSS, 1999)

II.6 Composition et distribution des fibres musculaires

La chair de poisson comprend trois différents tissus musculaires : le tissu rouge superficiel, le tissu blanc profond et le tissu rose intermédiaire, qui diffèrent par leurs propriétés métaboliques et de contraction. Ces propriétés sont données par le type de fibre musculaire présente dans ces muscles : le muscle rouge est constitué de fibres lentes (taux lent de contraction) oxydatives et le muscle blanc de fibres rapides (taux rapide de contraction) glycolytiques.

Il est possible de différencier des espèces par la composition et la distribution en fibres des muscles blancs et roses des poissons.

Une étude a été réalisée sur des jeunes poissons-chats (*Ictalurus melas*) de 20-25 cm, dont les muscles sont encore immatures mais représentant quand même bien les caractéristiques des muscles de l'espèce.

Le muscle rose est composé de 2 différentes couches elles mêmes composées de types de fibres spécifiques. Le muscle blanc est classifié comme non mosaïque à cause de sa relative homogénéité au niveau de la taille et des propriétés métaboliques et de contraction des fibres, ce qui fait sa différence avec les autres espèces de poissons. Un autre poisson-chat, *Clarias anguillaris*, ne montre pas une telle distribution de ces fibres mais cependant, un modèle avec des fibres mosaïques a été observé dans le muscle blanc de *Heteropneuste fossilis* (FAUCONNEAU).

Ces variations sont bien liées à des différences d'espèces même si d'autres facteurs comme le statut nutritionnel et la saison jouent aussi un rôle dans la distribution des fibres musculaires dans les tissus. Il semble quand même que le muscle blanc des Siluriformes est bien plus homogène, comparé à d'autres espèces de poissons.

III. Paramètres organoleptiques

III.1 Contexte

L'évaluation sensorielle est définie comme la discipline scientifique utilisée pour évoquer, mesurer, analyser et interpréter les réactions aux caractéristiques des aliments perçues par les cinq sens. (HUSS, 1999)

Les analyses organoleptiques se réalisent le plus souvent par des analyses sensorielles (aspect, odeur, flaveur, texture) et donc par l'intermédiaire de dégustations et par la suite l'emploi d'outils statistiques. Il faut cependant noter qu'il existe des variations entre les individus dans la réponse au même taux de stimuli, ce qui peut contribuer à une réponse non concluante des tests.

Suivant le lieu de croissance des poissons, il arrive que pour une même espèce, on trouve des saveurs ou des couleurs différentes. Ces paramètres sont souvent étudiés afin d'améliorer la qualité pour le consommateur et moins pour la traçabilité.

III.2 Goût et odeur

Les poissons sont susceptibles d'acquérir des goûts ou des odeurs à partir de molécules présentes dans leur environnement.

III.2.1 Lieu de pêche

Il arrive que l'on pêche du poisson ayant une flaveur désagréable et plus spécifiquement dans certaines zones que dans d'autres. On peut attribuer ces saveurs aux différents composés ou organismes dont se nourrissent les poissons. Par exemple, les mollusques planctoniques, *Spiratella helicina*, provoquent une flaveur désagréable dite de "pétrole" ou de "mazout" qui est due à la b- propiothétine diméthylque, transformée en sulfure diméthylque dans le poisson. Aussi, les larves de moules *Mytilus* spp donnent au hareng un goût amer.

Par ailleurs, certaines espèces de poissons et de crevettes du milieu marin ont une flaveur d'iode, due aux composés volatils bromophénoliques, qui sont formés par des algues marines, des éponges et des bryozoaires avant d'être distribués par la chaîne alimentaire.

III.2.2 Géosmine et MIB

Certains poissons adoptent un goût de vase, notamment les poissons-chats américains, et ce défaut majeur a de lourdes conséquences sur le commerce des produits.

Ce défaut provient essentiellement de deux composés bicycliques terpénoïdes : la géosmine et le 2-méthylisobornéol ou MIB. Les poissons les absorbent par les branchies, la peau et le tractus intestinal (TUCKER, VAN DER PLOEG, 1999) et leur chair prend alors un goût de vase à partir d'une concentration de 2 à 3 ppb. La contamination n'est pas uniforme et les muscles postérieurs sont généralement moins riches en géosmine et MIB que les parties antérieures. Les fortes températures, une densité d'élevage élevée, et des régimes alimentaires lourds favorisent l'apparition du goût de vase. (DABBADIE, 2004)

Les organismes producteurs sont principalement les cyanobactéries comme *Anabaena* (Figure 12), responsables de la sécrétion de géosmine, souvent rencontrés dans les milieux eutrophes.



Figure 12 :

Filament d'Anabaena (8µm de diamètre), une espèce d'algue bleu-verte productrice de molécules de géosmine.

De même, les bactéries actinomycètes (Figure 13), notamment *Streptomyces* et *Actinomyces*, produisent des molécules de MIB qui confèrent ce goût de vase en arrière goût aux poissons d'eau douce. Cependant, ce sont des espèces terrestres vivant dans les sols et apportées dans les étangs par lessivage. Elles ne survivent et ne se développent dans l'eau que si les conditions de températures et de pH sont adéquates.

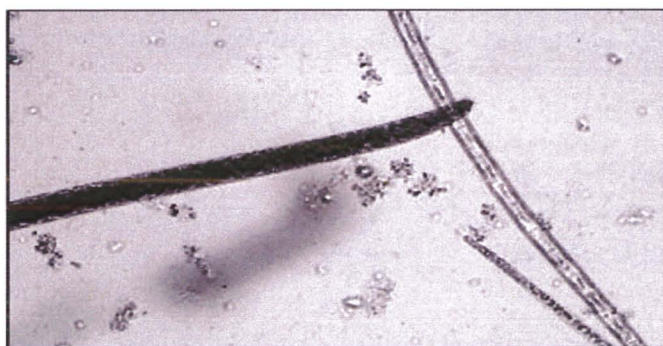


Figure 13 :

Filament d'Oscillatoria peromata (10µm de diamètre), une espèce d'algue bleu-verte, responsable de la production de MIB.

Il semble que la présence de géosmine et de MIB soit plus courante en étang d'eau douce avec une production intensive, ce qui pourrait laisser penser que l'apparition d'un goût de vase chez un poisson donne une indication sur une probabilité d'élevage en étang.

III.3 Couleur

III.3.1 Effet du système d'élevage

Au Vietnam, les poissons adoptent une couleur jaune des filets lorsqu'ils proviennent d'un élevage en étang fertilisé avec des déjections d'animaux (porc, volaille, homme) ou à un étang à faible renouvellement d'eau.

Une étude a été faite chez 2 espèces de poissons chat : *Pangasius bocourti* et *P.hypophthalmus*. Leurs filets ont été analysés via un système de description « L, a, b ». « L » donne la luminance (la « blancheur ») de l'échantillon, « a » donne une coordonnée selon l'axe vert-rouge et « b » selon l'axe jaune-bleu. (Figure 14)

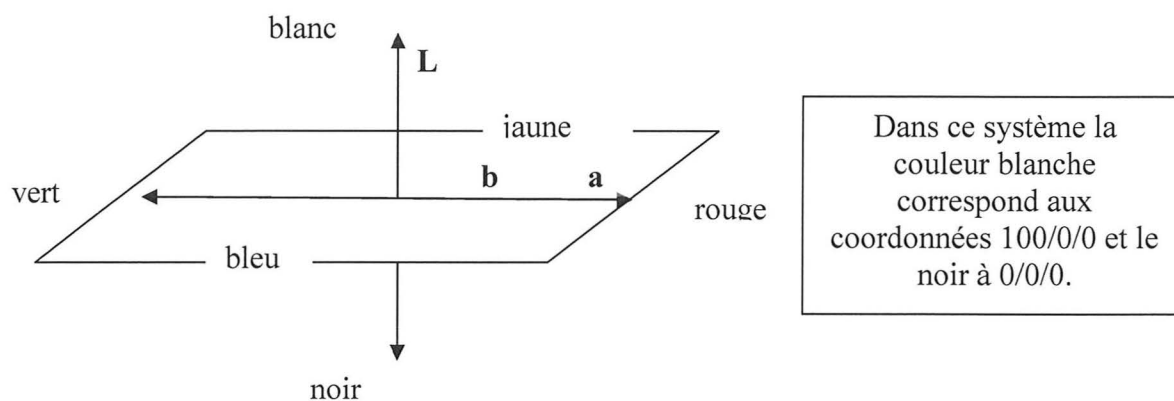


Figure 14: Repère du système L, a, b (d'après Huillery, 2001)

Les résultats sont les suivants (Tableau 4) :

Tableau 4: Analyses colorimétriques des filets de poissons en fonction de la structure d'élevage

Code unité	Effectif	L, moyenne	Ecart-type	Code unité	Effectif	a, moyenne	Ecart-type
C1	5	59,99	0,30	C1	5	-1,63	1,84
D1	5	61,32	0,46	D1	5	1,56	1,35
E1	5	60,17	0,08	E1	5	-2,24	1,92
E2	5	57,18	0,47	E2	5	-2,04	1,55
E3	10	56,63	0,32	E3	10	-1,32	1,82
E4	9	57,13	0,46	E4	9	-1,51	1,93
E5	5	56,31	0,39	E5	5	-1,64	2,41
E6	10	57,62	0,37	E6	10	-1,94	3,48
E8	10	58,79	0,38	E8	10	-1,84	2,08

Code unité	Effectif	b, moyenne	Ecart-type
C1	10	-0,32	0,80
D1	10	-1,09	0,79
E1	10	-1,08	1,32
E2	10	3,92	1,02
E3	20	0,47	0,50
E4	19	-0,20	0,95
E5	10	0,18	1,02
E6	20	3,43	2,29
E8	20	-0,47	1,09

Les « codes unités » sont les mêmes que ceux présentés à la page 8.

Les poissons issus de l'enclos (D1) ont la luminance la plus élevée. Sur l'axe a, on peut également distinguer l'enclos qui a la seule coordonnée positive (côté rouge).

Sur l'axe bleu jaune (axe b) on constate que deux unités ont des valeurs supérieures à 3 : E2 et E6. Ces deux étangs ont les plus faibles renouvellements (respectivement 15 % par jour et 5 % par jour) parmi les dix unités suivies. A l'œil, les filets avaient une coloration jaune marquée. (GUIBERT, 2003)

Une couleur jaune des filets de poissons chats élevés au Vietnam semble être un indicateur d'un élevage en étang à faible renouvellement d'eau.

III.3.2 Effet des pigments

La couleur de la chair est très subtile et peut être contrôlée partiellement par l'apport de précurseur de pigment dans l'alimentation ou par l'élevage de souche non pigmentée.

En effet, l'alimentation et plus particulièrement l'apport de pigments caroténoïdes (astaxanthine ou canthaxanthine) modifie la couleur de la chair. Cette technique est beaucoup utilisée en élevage de Salmonidés mais il est possible de différencier les poissons issus d'élevage et les poissons sauvages par l'étude des pigments.

Une telle étude a été réalisée sur les saumons par la DGCCRF (Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes) : L'astaxanthine extraite du muscle de saumon est analysée par HPLC (High Performance Liquid Chromatography) sur une colonne chirale. Les stéréo-isomères *trans* de l'astaxanthine (3S3S', 3R3R', méso) sont identifiés et quantifiés pour chaque poisson.

Les profils en chromatographie chirale des isomères *trans* de l'astaxanthine sont les suivants (Figure 15 et Figure 16) :

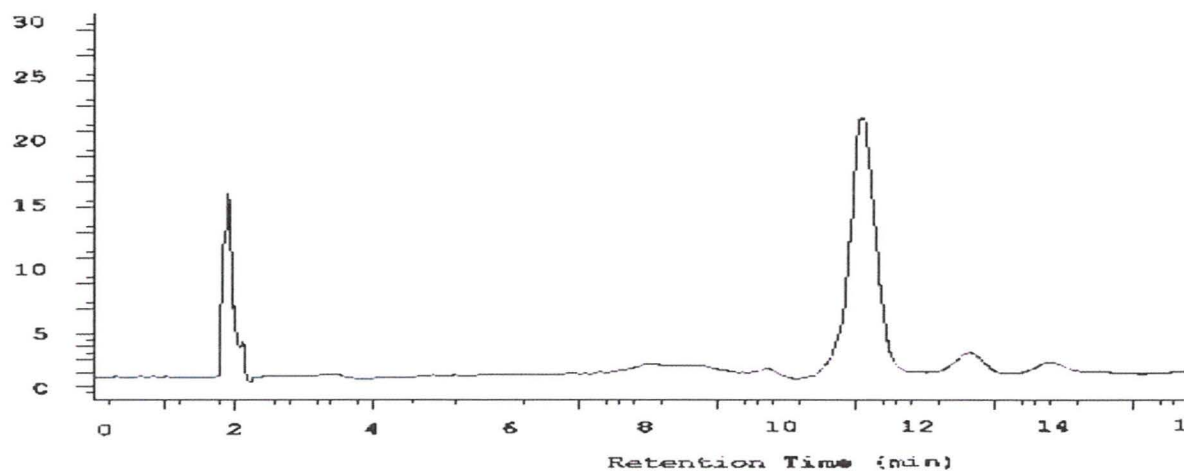


Figure 15: Profil chromatographique des isomères *trans* de l'astaxanthine extraite d'un saumon sauvage

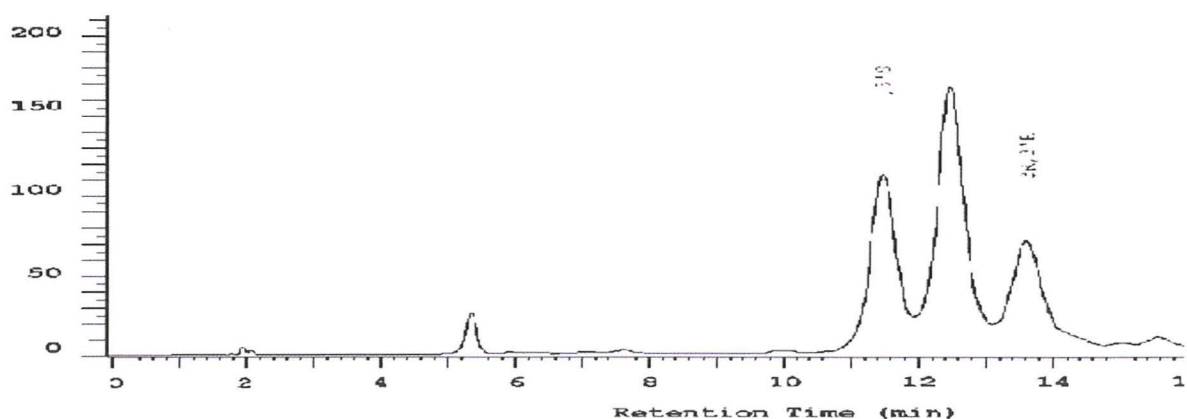


Figure 16 : Profil chromatographique des isomères *trans* de l'astaxanthine extraite d'un saumon d'élevage

Le profil chromatographique des isomères trans de l'astaxanthine discrimine bien les saumons produits dans les établissements aquacoles et les saumons sauvages (DGCCRF).

III.3.3 Effets des AGPI et de la vitamine E

Une étude sur les saumons d'Atlantique a été réalisée afin d'observer les effets des acides gras polyinsaturés (AGPI) et de la vitamine E sur la pigmentation de la chair.

Des groupes de 10 poissons ont été nourris avec différents taux d'AGPI et deux taux différents de vitamine E. Toutes les rations ont ensuite été accompagnées de la même quantité d'astaxanthine. (Figure 17, Figure 18 et Figure 19)

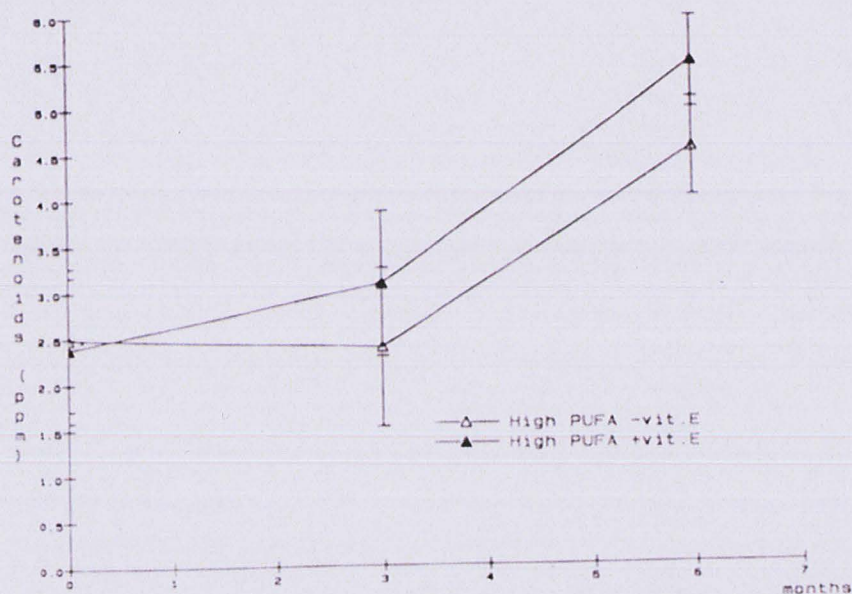


Figure 17: Effets de deux rations différentes en vitamine E sur le dépôt de caroténoïdes dans la chair de saumon. La source lipidique était riche en AGPI (huile de sardine)

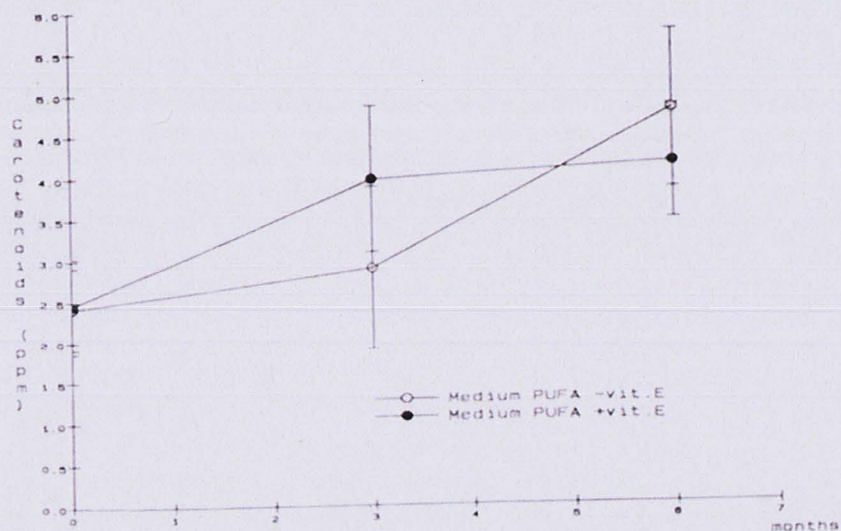


Figure 18: Effets de deux rations différentes en vitamine E sur le dépôt de caroténoïdes dans la chair de saumon. La source lipidique était moyennement riche en AGPI (caplin oil)

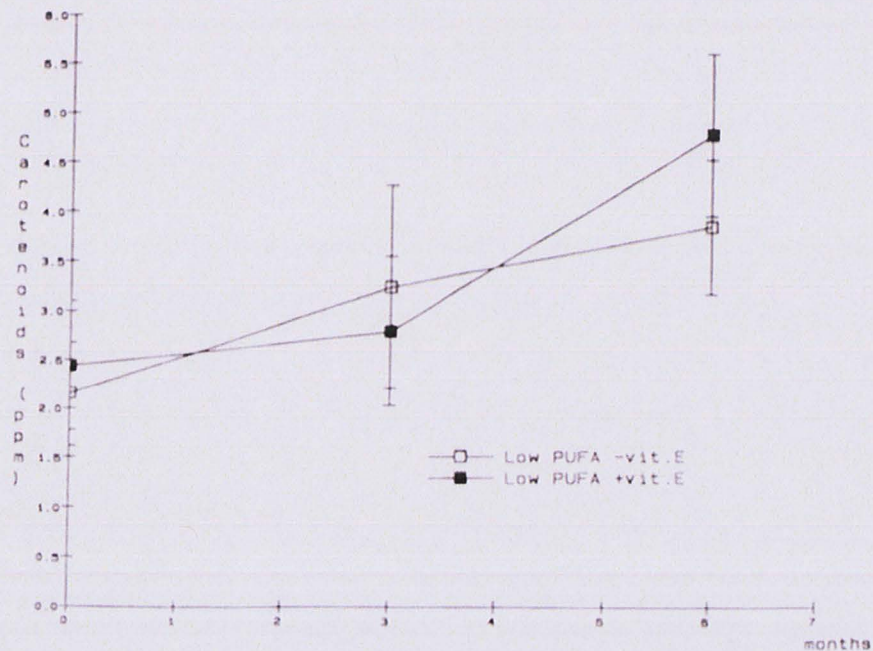


Figure 19: Effets de deux rations différentes en vitamine E sur le dépôt de caroténoïdes dans la chair de saumon. La source lipidique était pauvre en AGPI (huile de soja)

Les muscles analysés provenaient du muscle dorsal au dessus la ligne antérieure ventrale de la nageoire dorsale. Il en a résulté que les groupes de poissons nourris avec les plus hauts taux de vitamine E et d'AGPI possédaient des taux supérieurs en caroténoïdes. (CHRISTIANSEN *et al.*, 1991)

Les analyses colorimétriques de la chair de poisson donnent de multiples indications et permettent notamment de différencier les espèces sauvages des espèces d'élevage. Il semblerait que ce soit un indicateur pertinent pour la traçabilité.

IV. Composition chimique

La composition chimique du poisson varie considérablement d'une espèce et d'un individu à l'autre selon l'âge, le sexe, l'environnement et la saison. Les facteurs de variations sont liés à la composition de l'alimentation, aux déplacements migratoires et aux changements sexuels en rapport avec la ponte ainsi que les caractères génétiques. Des poissons élevés en aquaculture peuvent aussi présenter des variations mais comme plusieurs facteurs sont maîtrisés via les conditions d'élevage, on peut ainsi prévoir la composition chimique de la chair. La composition des poissons produits varie surtout avec la composition de l'alimentation administrée aux poissons. (HUSS, 1999)

IV.1 Composition corporelle brute

IV.1.1 *Effet des variations saisonnières*

La fraction lipidique est le composant subissant les variations les plus importantes et en ce qui concerne les espèces marines comme le hareng et le maquereau, cette variation est typiquement saisonnière (Figure 20). La fraction protéinique reste constante dans la plupart des espèces marines mais des variations sont observées lors de longues migrations de ponte comme chez le cabillaud de la Baltique de janvier à juin-juillet (Figure 21). (HUSS, 1999)

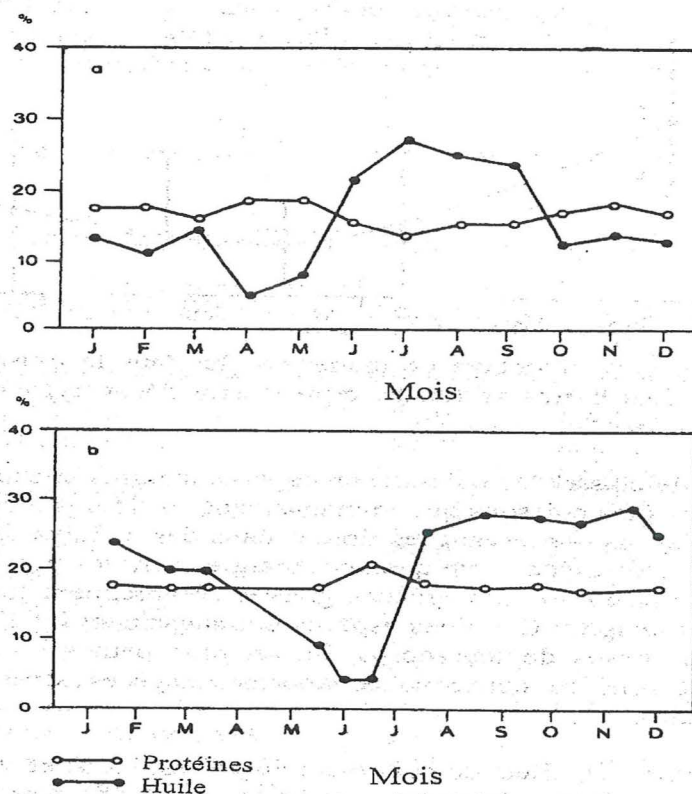


Figure 20: Variation saisonnière de la composition chimique des (a) filets de harengs (*Clupea harengus*) et (b) filets de maquereaux (*Scomber scombrus*). Chaque point représente la valeur moyenne sur 8 filets

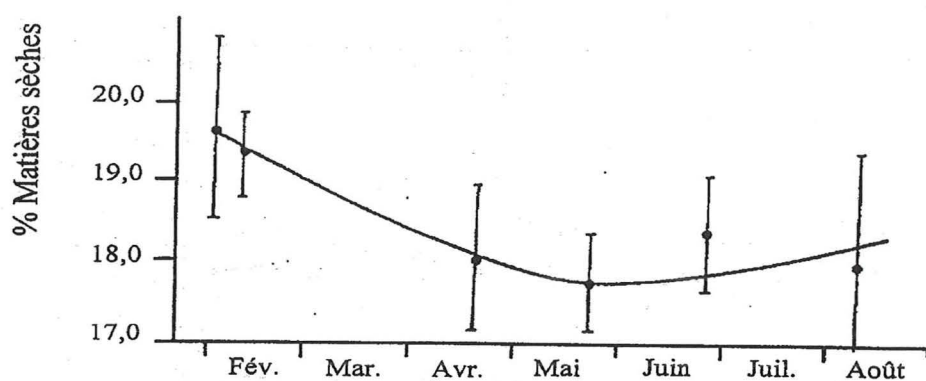


Figure 21 : Variation en % de matière sèche dans le muscle de cabillaud de la Baltique

Les variations saisonnières influencent donc la composition chimique des poissons marins et plus particulièrement la teneur en lipides.

IV.1.2 Effet de la température

L'influence de la température sur la croissance des poissons est reconnue (SACLAUSO, 1985) et les activités de digestion et de conversion sont elles aussi fortement influencées via les réactions enzymatiques.

Une étude a été réalisée sur la carpe commune et sur les effets de la température environnante et du taux d'alimentation sur la composition chimique des alevins. (Tableau 5)

Tableau 5 : Composition des différents échantillons

Treatment No.	Temp. (°C)	Feeding rate (BW/day)	Moisture protein	Crude lipid	Crude	Ash	Total
Trial 1							
A1	32	10	79.06 a	12.24 a	4.52 f	2.37	98.19
A2		15	78.57 ab	13.16 b	5.37 e	2.06	99.16
A3		20	78.05 bc	13.40 b	6.01 bc	2.03	99.49
A4		25	77.94 bc	13.26 b	6.23 b	2.10	99.53
B1	28	10	78.48 ab	13.29 b	5.68 cd	2.00	99.45
B2		15	78.00 bc	13.34 b	6.26 b	2.00	99.60
B3		20	77.36 c	13.38 b	6.70 a	1.95	99.39
B4		25	77.80 bc	13.20 b	6.60 a	1.94	99.54
C1	24	10	78.87 a	12.75 b	5.41 de	1.93	98.96
C2		15	78.03 bc	13.04 b	6.03 bc	1.96	99.06
C3		20	78.11 bc	12.91 b	6.78 a	1.70	99.50
C4		25	77.37 c	13.28 b	6.93 a	1.78	99.36
		+ SE*	0.189	0.168	0.101		
Trial 2							
D1	35	15	80.54 a	12.74 a	2.66 d	3.01	98.95
D2		20	80.06 a	13.04 a	3.71 c	2.90	99.71
D3		25	78.41 b	13.39 a	4.36 bc	2.77	98.93
D4		30	78.20 b	13.69 a	4.79 ab	2.76	99.44
D5	32	35	78.57 b	13.56 a	4.34 bc	2.62	99.09
E1		25	78.02 b	13.85 a	5.17 a	2.58	99.62
E2		30	77.22 b	14.30 a	5.41 a	2.46	99.39
E3		35	78.49 b	13.36	5.36 a	2.26	99.47
F1	28	25	78.01 b	13.30 a	5.56 a	2.54	99.41
F2		30	77.81 b	13.57 a	5.38 a	2.53	99.29
F3		35	77.94 b	13.17 a	5.58 a	2.64	99.33
		+ SE*	0.322	0.255	0.185		

Les résultats ont montré que la température et le taux d'alimentation influencent bien la composition chimique des alevins. En général, à chaque hausse de température et une augmentation du taux de nourriture, le taux d'humidité diminue et la teneur en lipides augmente et en cas de fortes températures, le taux de lipides chute.

Il semble que la température joue effectivement un rôle dans la composition chimique des poissons mais cependant, il se peut que ce ne soit qu'un effet indirect, la disponibilité en nourriture, les conditions d'élevage, la prise alimentaire étant des facteurs bien plus importants. (CORRAZE *et al.*, 1999)

IV.2 Profil de protéines

Les protéines des tissus musculaires des poissons peuvent être divisées en 3 groupes :

▲ Les protéines structurelles (actine, myosine, tropomyosine, actomyosine) correspondent à environ 70 à 80 % de la teneur globale en protéines et sont responsables des mouvements des muscles.

▲ Les protéines sarcoplasmiques (myoalbumine, globuline, enzymes) représentent environ 25 à 30 % des protéines et sont impliquées dans le métabolisme des cellules. Elles sont un moyen de différencier les espèces de poissons entre elles car chacune développe un profil électrophorétique caractéristique lorsqu'elles sont séparées par électrophorèse.

▲ Les protéines du tissu conjonctif (collagène) constituent environ 3 % des protéines chez les téléostéens et environ 10 % chez les élasmobranches. La distribution et la teneur en collagène reflètent la manière de nager des espèces et ont une influence sur la texture des muscles du poisson. (HUSS, 1999)

De manière générale, les protéines ne sont pas des éléments variant avec l'environnement de façon à s'en servir en tant que marqueur pour la traçabilité des poissons.

IV.3 Profil lipidique et acide gras

Les lipides sont des aliments de haute énergie et jouent un rôle direct dans la croissance et la composition de la chair des poissons.

Il y a plusieurs types de lipides dans la chair des poissons :

▲ Les triglycérides, constituent la majeure partie des lipides de réserve. Ils peuvent être stockés dans le foie, dans le tissu adipeux péri viscéral, dans le tissu adipeux sous cutané, ou dans les muscles, sachant que le site de dépôt varie avec l'espèce.

▲ Les phospholipides, présents dans tous les tissus, constituent une part assez importante de la biomasse. La phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine représentant respectivement 60 % à 20 % des phospholipides. (HUSS, 1999)

IV.3.1 Dépôt lipidique

Le dépôt lipidique varie avec l'Energie Digestible apportée par l'alimentation et la répartition des lipides corporels varie selon l'espèce et dépend également de la température d'élevage, le transport des lipides étant accéléré à basse température. (HUSS, 1999)

Une étude a été réalisée sur la truite « arc-en-ciel » pour évaluer l'utilisation métabolique des lipides alimentaires. Pour cela, un triglycéride, l'acide palmitique (acide gras majoritaire dans les huiles de poissons classiquement incorporés dans les aliments piscicoles), marqué au

carbone 14 a été administré aux poissons. La radioactivité a ensuite été mesurée dans les lipides tissulaires 30 heures après l'ingestion. (Figure 22)

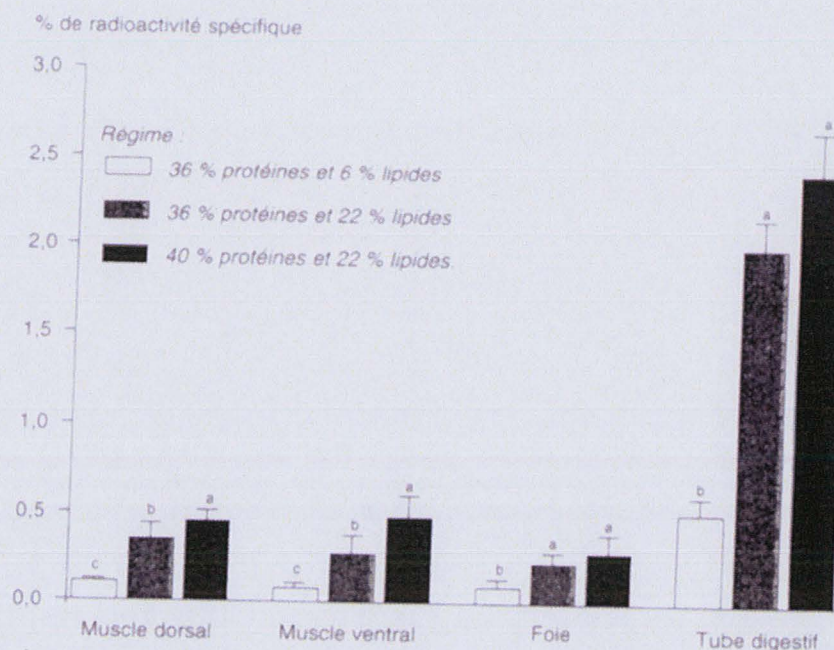


Figure 22 : Evaluation de l'incorporation de ^{14}C -tripalmitate dans les lipides tissulaires de la truite arc en ciel par le % de radioactivité spécifique retrouvé 30 heures après ingestion

D'après le tableau, les régimes riches en lipides conduisent à une élévation de la teneur en lipides du muscle dorsal, ventral et du tractus digestif incluant les graisses péri-viscérales. Par contre, le taux protéique du régime n'affecte pas la teneur en lipides tissulaires.

Ces résultats montrent que le tube digestif joue un rôle prépondérant dans le stockage des lipides alimentaires chez les Salmonidés. (CORRAZE *et al.*, 1999)

IV.3.2 Teneur en lipides

La variabilité de la texture de la chair de poisson est induite principalement par l'alimentation. En effet, les huiles de poisson, les huiles végétales (Figure 23 et Figure 24), le taux de rationnement, les périodes de jeûne et de réalimentation, et enfin l'apport vitaminique jouent un rôle important (KAUSHIK, 2004), notamment sur la teneur en graisse de la chair.

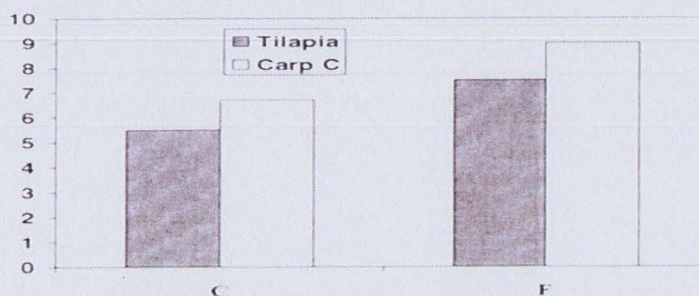
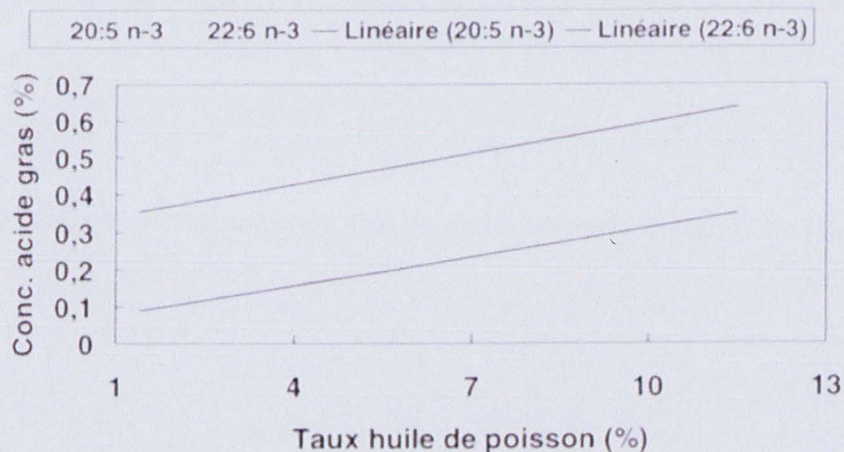


Figure 23 : Composition en acides gras polyinsaturés ω_3 (%) de la chair de Tilapia enrichi (F) ou non (C) en huiles de poisson



(d'après Kim, 1989)

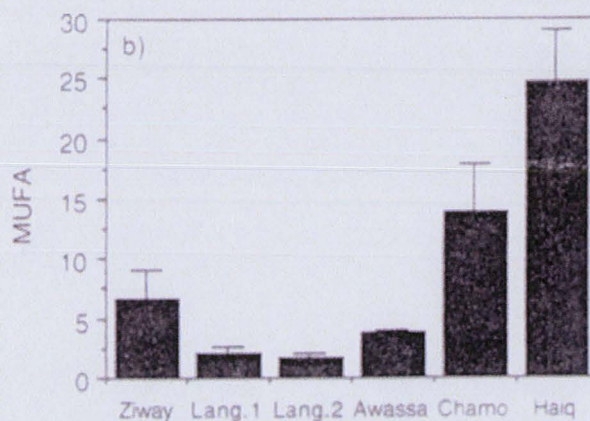
Figure 24: Effet de l'incorporation d'huiles de poisson sur la teneur en acides gras polyinsaturés de la chair de la truite

L'alimentation et plus particulièrement la teneur en lipides de la ration influence la structure de la chair de poisson et sa teneur en graisse.

IV.3.3 Composition en acides gras

La composition en lipides et acides gras des poissons varie d'un individu à l'autre à l'intérieur d'une même espèce et même d'un étang à l'autre à cause des variations phytoplanctoniques.

Une étude a été réalisée chez *Oreochromis niloticus*, présent dans les lacs Ethiopiens, sur la teneur en lipides et acides gras dans le muscle dorsal via des techniques de spectrophotométrie et de chromatographie gaz-liquide. Dans chaque lac, la teneur en lipides et acides gras dans la chair varie et cela est lié à une composition différente de la nourriture absorbée. En effet, le phytoplancton constitue l'alimentation principale d'*O. niloticus* et la composition en lipides et acides gras de ce phytoplancton est reflétée chez ces poissons herbivores. (Figure 25)



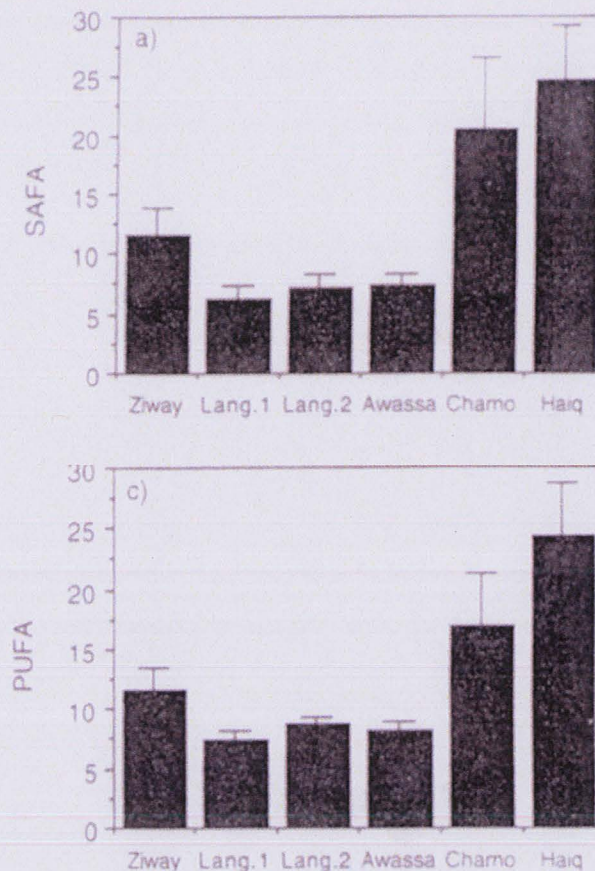


Figure 25: Taux d'acides gras saturés (SAFA), d'acides gras monoinsaturés (MUFA) et d'acides gras polyinsaturés (PUFA) chez *O. niloticus* dans 5 lacs.

Etudier la composition en lipides et acides gras du phytoplancton peut donner une indication sur la composition lipidique des poissons présents dans les mêmes milieux. Cela peut servir par la même occasion à retrouver géographiquement un poisson via son alimentation. (TADESSE et al., 1998)

La plus ou moins grande diversité des acides gras peut aussi permettre de distinguer les poissons de pêche des poissons d'élevage.

En général, les poissons sauvages ont des taux d'acide gras polyinsaturés (AGPI) de type $\omega 3$ supérieurs aux poissons d'élevage (lié au milieu). En effet, en milieu marin, ce sont les AGPI à longue chaîne (supérieure à 20 carbones) qui prédominent chez le phytoplancton alors qu'en eau douce, c'est l'acide α -linoléinique qui est dominant (18:3 n-3). Mais les poissons d'eau douce sont capables de synthétiser des AGPI à longue chaîne à partir des acides gras apportés par l'alimentation (C18) pour subvenir à leur besoin en acides gras essentiels.

De plus, le contenu en phospholipides est plus important chez les poissons sauvages et ceux d'eau douce contiennent plus de lipides neutres.

Une étude a été réalisée sur des alevins de surubims, *Pseudoplatystoma coruscans*, poissons d'eau douce brésiliens carnivores afin de démontrer les effets des lipides administrés et la composition en lipides du poisson. Les résultats de cette recherche ont montré que les

poissons nourris avec certains acides gras en grande quantité retrouvaient dans leur composition ces mêmes acides gras et en grande quantité aussi.

Il est donc possible de retrouver exactement le profil alimentaire par l'analyse du profil d'acide gras. (MARTINO *et al.*, 2002)

IV.4 Extraits azotés

Ce sont des composés de nature non protéique, solubles dans l'eau, de poids moléculaire faibles et retenant de l'azote. Cette fraction ANP (azote non protéique) comprend des bases volatiles telles que l'ammoniaque, l'oxyde triméthylamine (OTMA), la créatine, les acides aminés libres, les bases nucléotides et puriques et l'urée dans les cas des cartilagineux.

L'OTMA constitue une part importante et caractéristique de la fraction ANP chez les espèces marines. Ce composant se trouve dans toutes les espèces marines à un taux variant de 1 à 5% dans le tissu musculaire mais est absent chez les poissons d'eau douce à deux exceptions récentes près : la perche du Nil et le tilapia du Lac Victoria.

L'OTMA serait formé par biosynthèse dans certaines espèces de zooplancton et pourrait constituer un outil de différenciation entre espèces marines et d'eau douce. (HUSS, 1995)

IV.5 Vitamines

Les vitamines sont des éléments importants car ils jouent un rôle dans la résistance aux infections. Des carences en vitamines entraînent des problèmes de croissance, des fonctions biochimiques déficientes avec des conséquences au niveau des cellules et des organes et l'apparition de signes cliniques (Tableau 6 et Tableau 7). (LALL, OLIVIER, 1991)

Tableau 6 : Signes cliniques chez les poissons en cas de déficience en vitamines

Water soluble vitamin deficiency signs*	
Vitamin	Deficiency
Thiamin (B1)	dark skin, anorexia, nervousness, stress
Riboflavin (B2)	anaemia, cloudy lens, fin / snout erosion
Pyridoxine (B6)	irritability, oedema, nervous disorders
Pantothenate	gill necrosis, anemia, exophthalmia, skin burn
Niacin	oedema, muscular spasms, light susceptibility
Folic acid	anaemia, exophthalmia, distended abdomen
vitamin B12	anaemia, RBC rupture
Biotin	gill damage, muscular atrophy, convulsion
Inositol	digestive disorders
Choline	fatty liver, internal haemorrhage
vitamin C	lordosis, scoliosis, wound healing, stress

Tableau 7 : Signes cliniques de déficience et d'excès en vitamines chez les poissons

Fat soluble vitamins : *signs of deficiency / excess		
Vitamin	Deficiency	Toxicity
vitamin A	exophthalmia, eye degeneration	> 2 mill IU/kg
	depigmentation, skin lesions	fin erosions
vitamin D3	tetany, fatty liver,	> 1 mill IU/kg
	muscular dystrophy	
vitamin E	gill damage, poor egg quality	> 5000 mg/kg
	lipid peroxidation	anaemia
	muscle degeneration	
vitamin K3	anaemia, haemorrhage	

*Poor growth is a generic sign

En terme de traçabilité, les vitamines ne sont pas des éléments à prendre en compte mais les carences en vitamines peuvent être un indicateur sur un poisson entier de mauvaises conditions de nutrition.

IV.6 Isotopes lourds

L'analyse de la chair du poisson peut se faire via des isotopes stables du carbone (ratio $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), de l'hydrogène (ratio $^2\text{H}/^1\text{H}$), de l'azote ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$), de l'oxygène et du soufre. On peut donc quantifier, via la spectrométrie de masse, les apports en ces différents éléments par la nourriture administrée par un éleveur ou par l'alimentation naturelle et permettre ainsi d'observer la contribution de chacun pour la croissance du poisson. Plus précisément, ces isotopes permettent de suivre les différents éléments au travers des multiples voies métaboliques.

Une étude a été réalisée en Israël chez les tilapias hybrides, élevés en polyculture dans un étang fertilisé et nourris avec des granulés. L'isotope stable du carbone a été utilisé pour mesurer, via le ratio $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou δC , la contribution en carbone de la nourriture absorbée et le taux de carbone présent chez les poissons (*Figure 26*).

Tilapia aurea hybrid					
Feed Type	Feed δC	Weight Stocked (gms)	Weight at harvest (gms)	δC of tilapia flesh	
				at stocking	at harvest
Frozen Common carp	-19.4 ± 0.5	7	34	-22	-18.4, -18.5
"	"	"	23	"	-18.5
"	"	"	30	"	-18.6
Frozen Silver carp	-22.3 ± 0.3	7.5	55	-22	-20.4
"	"	"	28	"	-20.7

Figure 26 : Relation entre le δC de la chair et le δC du corps entier des tilapias

Les résultats du tableau montrent que le δC des tilapias est similaire au δC de la nourriture qu'il a absorbé. D'autres expériences ont montré que le δC chez ces mêmes poissons était similaire à celui présent dans les algues de l'étang. (SCHROEDER, 1981)

Les isotopes lourds sont donc des éléments importants et qui peuvent être des marqueurs de traçabilité pertinents.

V. Paramètres microbiologiques

Un programme de recherche a été lancé par le CIRAD-Amis pour assurer la traçabilité des produits tropicaux provenant d'Asie du Sud Est en partant sur l'hypothèse suivante : l'identité et la combinaison d'espèces microbiennes, qui dépendent d'écosystèmes différents, pourraient renseigner sur l'origine géographique d'un produit.

V.1 Flore microbienne

Il s'agit d'étudier les espèces bactériennes aérobies appartenant à la flore commensale des poissons (ouies, peau et intestin) pour identifier les flores microbiennes présentes à un endroit précis et connaître aussi les niveaux de population des différentes espèces pour savoir si les bactéries présentes à l'origine restent tout au long de la filière.

Une étude de la flore microbienne chez l'espèce *Oreochromis niloticus* a été réalisée en Thaïlande dans la ferme expérimentale du département de pisciculture de la Suranaree University en 2003. Les flores microbiennes de l'environnement des poissons ont été comparées à celles de la nourriture ingérée et celles des poissons eux-mêmes (échantillon des ouies, des intestins et de la peau). Les résultats ont été obtenus sur les milieux PCA (non sélectif), XLD (sélectif des *Aeromonas*) et TCBS (sélectif des *Vibrios*) et les souches ont été identifiées via les galeries API (Figure 27).



Figure 27 : Photo d'une galerie API 20 E de Biomerieux après incubation

La flore aérobique des poissons provenant de trois types d'étang a été analysé : un étang à bon renouvellement d'eau, un étang avec un faible renouvellement d'eau et un étang situé au dessus d'un élevage de poulets. Les résultats sont les suivants :

. **Etang à bon renouvellement d'eau** : la flore bactérienne des poissons était majoritairement composée des genres *Providencia* et *Proteus*. Les bactéries *Escherichia vulneris*, *Pseudomonas putrefaciens* et *Enterobacter agglomerans* 2 ont été observées uniquement dans ce milieu.

. **Etang à faible renouvellement d'eau** : la flore aérobique était majoritairement composée des genres *Aeromonas* et *Pseudomonas*. Le genre *Moraxella* a été observé uniquement dans ce milieu.

. **Etang au dessus d'un élevage de poulets** : La flore des poissons était composée majoritairement des genres *Providencia* et *Morganella*. Seule la bactérie *Serratia marcescens* a été observée dans ce milieu. (MOREAU, 2003)

Cette étude montre qu'il est possible de caractériser un étang par la flore microbienne des poissons élevés dans le milieu.

De plus, les analyses des bactéries aérobies de l'eau des étangs et de la nourriture administrée aux poissons (granulés) montrent une relation entre les différentes flores microbiennes identifiées sur les poissons et les milieux d'origine. (MONTET, 2004)

De la même manière, la faune parasitaire d'un poisson peut indiquer l'origine d'une population de poissons. Par exemple, si un parasite a une répartition géographique stricte, il est possible de tracer un poisson contenant ce parasite dans une région ou dans un pays du monde. (HASTEIN *et al.*, 2001)

V.2 ADN des micro-organismes

Il s'agit d'identifier finement, à partir d'outils de biologie moléculaire, un contaminant ou de fabriquer des sondes nucléiques spécifiques des génomes microbiens.

V.2.1 *PCR/RFLP*

La technique PCR (Polymérase Chain Réaction) consiste à amplifier des gènes codant pour l'ARN ribosomal 16S, en utilisant des amorces de séquences hautement conservées. En effet, l'utilisation de 16SrRNA permet de déterminer avec certitude le genre et l'espèce de la souche étudiée.

La technique RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) consiste à fractionner les amplicons en utilisant des enzymes de restriction puis à les séparer par électrophorèse en fonction de leur poids moléculaire.

La caractérisation de marqueurs moléculaires par cette technique permet de montrer et d'étudier la diversité génétique des poissons et permet de confirmer l'origine géographique dans certains cas.

Cette technique peut être appliquée sur un produit quelque soit son traitement technologique, y compris l'appertisation.

V.2.2 *DDGE*

On utilise la technique DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) pour identifier les polymorphismes non détectés par les autres techniques PCR, RFLP, RAPIDA...

Cette technique est applicable à des fragments de plusieurs centaines de paires de base et ne nécessite pas une connaissance préalable du site polymorphe.

Elle consiste à dénaturer l'ADN au cours de l'électrophorèse et pour cela, les amplicons sont déposés sur le gel qui contient une concentration croissante d'un agent chimique dénaturant de l'ADN (urée-formamide). Au cours de l'électrophorèse, l'ADN migre d'abord à l'état double brin, puis rencontre des conditions qui dénaturent le domaine de fusion le moins stable de la molécule, formant une structure partiellement simple brin. Cette dénaturation partielle entraîne une réduction de sa mobilité électrophorétique, de sorte que sa position finale dans le gel dépend exclusivement de la température de fusion du domaine le moins stable et par là même de la séquence nucléotidique de ce dernier.

Cette technique a un haut taux de détection et de sensibilité et permet d'analyser la totalité des flores microbiennes présentes sur ou dans les poissons pour créer un code barre biologique ADN déterminant l'origine du poisson support (au niveau pays de production du poisson). (MONTET, 2004)

V.3 Antibiorésistance

Une étude de la sensibilité aux antibiotiques de souches de bactéries isolées de poissons-chats *Pangasius* a été réalisée dans deux pays : le Vietnam et la Thaïlande. Le but était de voir si la résistance des bactéries isolées de poissons aux antibiotiques pouvait servir de marqueur géographique.

303 souches bactériennes ont été isolées de 4 poissons d'élevage asiatique : un *Pangasius hypophthalmus* du Vietnam, un *P. bocourti* du Vietnam et 2 *tilapias* de Thaïlande. Les résultats sont les suivants (Figure 28) :

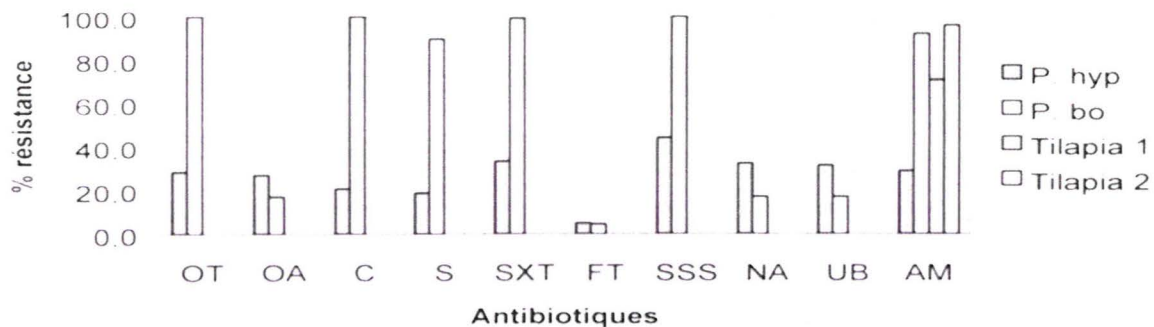


Figure 28 : Taux de résistance aux antibiotiques des bactéries isolées de *P.hypophthalmus*, *P.bocourti*, et deux *tilapias*

Les antibiotiques testés sont : Oxytétracycline (OT), Acide oxolinique (OA), Chloramphénicol (C), Streptomycine (S), Erythromycine (E), Triméthoprim + Sulphamethoxazole (2antibiotiques) (SXT), Furane (FT), Sulfamide (SSS), Acide nalidixique (NA), Fluméquine (UB), Ampicilline (AM).

Des différences majeures sont observées à partir des souches isolées des différents poissons et les *P.bocourti* obtiennent les plus forts taux de résistance. Certains poissons présentent des pics de résistance spécifiques (Figure 29) :

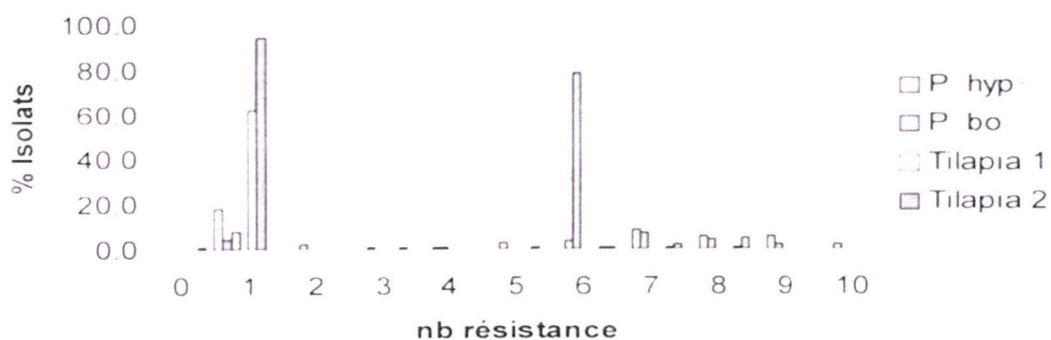


Figure 29 : Multirésistance des souches isolées des 4 poissons

80 % des souches de *P. bocourti* résistent à 6 antibiotiques simultanément, ce qui correspond à 5 classes d'antibiotiques différents. Plusieurs profils d'antibio-résistance ont alors été observés chez ce poisson (Tableau 8).

Tableau 8 : Profils d'antibio-résistance chez *P.bocourti*

	E coli	E c/salm	Enterob	Morg	profil Antibiotiques
Total 101	75	12	12	2	OTC, OA, C, S, SXT, FT, SSS, NA, UB, AM
Profil 1	69		9		OTC, C, S, SXT, SSS, AM
2		1			OTC, OA, C, SXT, SSS, NA, UB, AM
3	2	3			OTC, OA, C, S, SXT, SSS, NA, UB, [AM]
4				2	OTC, OA, C, SXT, FT, SSS, NA, UB, AM
5		3			OTC, OA, C, [S], SXT, SSS, NA, UB, [AM]
6		2			OTC, OA, C, SXT, SSS, NA, UB, [AM]
7	2		2		OTC, C, S, SXT, FT, SSS, AM
8		1			OTC, OA, C, [S], SXT, SSS, NA, AM
9			1		OTC, C, S, SXT, [FT], SSS, AM
10	1	2			OTC, OA, C, SXT, SSS, NA, UB
11	1				OTC, C, SSS, AM

L'identification des souches et les profils d'antibiorésistance sont parfaitement reproductibles. L'antibio-résistance permet de distinguer clairement les groupes d'espèces différents. Grâce à cet outil, il est possible de déterminer quelques marqueurs microbiens pour le poisson provenant du Vietnam : *Morganella morganii* (fort potentiel de résistance avec NA+FT), *Enterobacter sp* (sensible aux quinolones avec NA, OA, UB) et *E.coli* (sensibles aux quinolones). (MONTET, 2004)

L'analyse de l'antibiorésistance des bactéries est un outil de traçabilité pertinent pour la traçabilité des poissons

CONCLUSION

À partir de janvier 2005, la traçabilité devient une exigence réglementaire en Europe et pour tous les pays exportant leurs produits vers l'Union Européenne. Cette mutation profonde est préparée depuis plusieurs années (*TRACEFISH, 2002*). Mais les difficultés de mise en œuvre et la quantité d'informations qui doit être recueillie et transmise à toutes les étapes du processus de fabrication ne permettent pas d'envisager à court terme, que la traçabilité employée par les producteurs et les transformateurs soit très détaillée.

Il existe cependant de nombreux indicateurs morphologiques, rhéométriques, microbiologiques, moléculaires qui permettent de combler en partie ces lacunes prévisibles en reconstituant l'origine, l'histoire et le parcours des produits.

Un certain nombre d'entre eux sont cités dans ce rapport mais tous ne peuvent pas prétendre être de bons marqueurs pour tracer un poisson. L'étude des otolithes et plus particulièrement la microchimie des otolithes, la colorimétrie, l'étude des lipides et du profil d'acides gras, la microbiologie, l'antibiorésistance et les études ADN sont parmi les plus intéressants et méritent des études scientifiques complémentaires en vue de leur application à la traçabilité.

Cependant, comme cela apparaît dans ce rapport, la variabilité des différents marqueurs est grande et leurs causes sont nombreuses. Il est donc peu probable qu'un seul indicateur permette de reconstituer l'histoire d'un produit. Par contre, en fusionnant les informations et indices fournis par un « faisceau d'indicateurs », il est raisonnablement possible d'espérer disposer d'une sorte de « code barre biologique » permettant de connaître l'origine et l'histoire d'un produit.

BIBLIOGRAPHIE

BAIJO E., MOREAU J., BOUDA S., 1994. Aspects hydrobiologiques et piscicoles des retenues d'eau en zone soudano-sahélienne. Centre Technique de Coopération Agricole et Rurale (CTA) ; Commission des Communautés Européennes, Bruxelles. 250 pages.

BESANCENOT X., FROGET L., 1998. Influence des conditions d'élevage sur les qualités du poisson. Projet d'ingénieur de 3^{ème} année, spécialisation Sciences Animales et Filière des Produits, Institut National Agronomique Paris-Grignon (INAPG). 55 pages.

BORLONGAN I.G., BENITEZ L.V., 1992. Lipid and fatty acid composition of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) grown in freshwater and seawater. *Aquaculture* n° 104 pp 79-89.

CHRISTIANSEN R., WAAGBO R., TORRISSEN O.J., 1993. Effects of polyunsaturated fatty acids and vitamin E on flesh pigmentation in atlantic salmon (*salmo salar*). In: SJ.KAUSHIK et P.LUQUET (Eds), Fish nutrition in practice, actes du colloque tenu à Biarritz (France) du 24 au 27 juin 1991. Ed. INRA, Paris. pp 339-343.

CORRAZE G., LARROQUET L., MEDALE F., 1999. Alimentation et dépôts lipidiques chez la truite arc en ciel, effet de la température d'élevage. *INRA Prod. Anim.* n° 12. pp 249-256

CORRAZE G., KAUSHIK S.J., 1999. Les lipides des poissons marins et d'eau douce. *OCL (Journal français des oléagineux, corps gras, lipides)* n° 6 (1). pp 111-115

CORRAZE G., 1997. Modulation de la composition lipidique et de la qualité de la chair de poisson par l'alimentation. In : Actes du colloque du CRITT Valicentre, Matières premières en nutrition animale tenu à Chambray les Tours le 25 novembre 1997. pp 43-50.

DABBADIE L., 2004. Le goût de vase de la chair des poissons. Synthèse bibliographique, document interne CIRAD-EMVT, Equipe aquaculture, Montpellier. 13 pages.

FAGADE S.O., 1974. Age détermination in *Tilapia melanotheron* (RÜPPEL) in the Lagos Lagoon, Lagos, Nigeria – with a discussion of the environmental and physiological basis on growth makings in the Tropics. In: T.B Bagenal (Ed) The ageing of fish. Unwin Broother's Ltd., Old Woking Surrey, Angleterre. pp 71-77.

FARRELL J., CAMPANA S.E., 1996. Regulation of calcium and strontium deposition on otoliths of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* n°115 (A). pp 103-109.

FAUCONNEAU B., CHMAITILLY J., ANDRE S., CARDINAL M., CORNET J., VALLET J.L., DUMONT J.P., LAROCHE M., 1993. Caractéristiques de la chair de la truite arc en ciel : 2. Composantes physiques et sensorielles. *Sciences des aliments* n° 13. pp 189-199.

FAUCONNEAU B., CHMAITILLY J., ANDRE S., CARDINAL M., CORNET J., VALLET J.L., DUMONT J.P. , LAROCHE M., 1993. Caractéristiques de la chair de la

truite arc en ciel : 1. Composition chimique et cellularité du muscle et des tissus adipeux. Sciences des aliments n°13. pp 173-187.

FAUCONNEAU B., ALAMI-DURANTE H., LAROCHE M., MARCEL J., VALLOT D., 1995. Growth and meat quality relations in carp. Aquaculture n° 129. pp 265-297.

GUIBERT R., 2003. La pangasiculture dans le delta du Mékong (Viet Nam): Suivi de la qualité de l'eau en étangs et évaluation de la qualité des produits. Mémoire de fin d'étude, spécialisation : Sciences animales et filières des produits, Institut National Agronomique Paris-Grignon (INAPG) Paris. 64 pages.

HASTEIN T., HILL B.J, BERTHE F., LIGHTNER D.V., 2001. Traceability of aquatic animals. Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties n°20 (2). pp 564-583.

HOFFMAN L.C., PRINSLOO J.F., 1995. Genetic and nutritional influence on the total lipid fatty acid profile of *Clarias gariepinus* muscle. Aquatic Living resources n° 8. pp 415-421.

HOFFMAN L.C., PRINSLOO J.F., 1995. The influence of different dietary lipids on the growth and body composition of the African sharptooth catfish, *Clarias gariepinus*(Burchell); South African Journal of Science n° 91. pp 315-320.

HOFFMAN L.C., PRINSLOO J.F., DE WET L.M., SCHOONBEE H.J., 1995. The chemical composition of african sharptooth catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), found under natural conditions in municipal final effluent oxidation ponds. SA Journal of clinical nutrition n° 8 (2). pp 17-22.

HUSS H.H., 1995. Assurance de la qualité des produits de la mer. Document technique sur les pêches, n° 334 ; FAO (publ.) Rome, Italie. 186 pages.

HUSS H.H., 1999. La qualité et son évolution dans le poisson frais. Document technique sur les pêches, n° 248 ; FAO (publ.). 198 pages.

JOHNSTON I.A., 1999. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. Aquaculture n° 177. pp 99-115.

KAUSHIK S.J., 1997. Nutrition - alimentation et composition corporelle chez le poisson. Cahier de Nutrition et de Diététique, n° 32 (2). pp 100-106.

KAUSHIK S.J., 2004. Nutrition et alimentation des poissons. Document de cours DESS PARC, Montpellier. 51 pages.

LALL S.P., OLIVIER G., 1991. Role of micronutrients in immune response and disease resistance in fish. In: SJ.KAUSHIK et P.LUQUET (Eds), Fish nutrition in practice, actes du colloque tenu à Biarritz (France) du 24 au 27 juin 1991.Ed. INRA, Paris. pp 101-118.

MALAM MASSOU A., 2002. Effets de l'alimentation, du stress et de la reproduction sur les microstructures des otolithes (*sagittae*) de *Oreochromis niloticus* (*piscis*, *Cichlidae*) en conditions expérimentales. Thèse Doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, France. 118 pages.

MARTINO R.C., CYRINO J.E.P., PORTZ L., TAKAHASHI L.S., TRUGO L., 2002. Performance and fatty acid composition of surubim *Pseudoplatystoma coruscans* fed diets with animal and plant lipids. Aquaculture n° 209. pp 233-246.

MONTET D., 2004. Introduction à la traçabilité. Document de cours du DESS PARC, Montpellier. 23 pages.

MONTET D., 2004. Identification de marqueurs discriminants pour assurer la traçabilité des produits aquatiques tropicaux : applications à la traçabilité des poissons en Asie du sud-est. Document interne CIRAD-AMIS Montpellier. 26 pages.

MORALES-NIN B., 1986. Chemical composition of the otoliths of the sea bass. *Cybiu* n° 10. pp 115-120.

MOREAU C., 2003. Identification des principales espèces bactériennes du poisson *Tilapia nilotica*, élevé à la ferme aquacole de la Suranaree University of Technology en Thaïlande. Mémoire de fin d'étude, IUP biotechnologies et bio-industries, Montpellier. 32 pages.

MOUNAIX B., FONTENELLE G., 1994. Anguilles estuariennes et fluviales : apports de l'otolithométrie. *Bulletin Français de Pêche et Pisciculture* n° 335. pp 67-80.

PANNELLA G., 1980. Growth patterns in fish *sagittae*. In: D.C RHOADS et R.A. LUTZ (Eds) *Skeletal growth of aquatic organisms- biological records and environmental change*. Plenum press New York, Etats Unis. pp 519-560.

PETERSON B.J., FRY B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, n° 18. pp 293-320.

SACLAUSO C.A., 1985. Interaction of growth with social behaviour in *Tilapia zilli* raised in three different temperatures. *Journal of Fish Biology*, n° 26. pp 331-337.

SCHROEDER G.L., 1983. The stable isotopes of carbon: indigenous tracers in aquaculture food webs. *Bamidgeh* n° 35 (3). pp 79-90.

SCHROEDER G.L., WOHLFARTH G., ALKON A., HALEVY A., KRUEGER H., 1990. The dominance of algal-based food web in fish ponds receiving chemical fertilizers plus organic manures. *Aquaculture* n° 86. pp 219-229

SCHROEDER G.L., 1978. Autotrophic and heterotrophic production of microorganisms in intensely-manured fish ponds, and related fish yields. *Aquaculture* n° 14. pp 303-325.

SCHROEDER G.L. 1987. Carbon and nitrogen budgets in manured fish ponds on Israel's coastal plain. *Aquaculture* n° 62. pp 259-279.

SCHROEDER G.L., 1983. Stable isotope ratios as naturally occurring tracers in the aquaculture food webs. *Aquaculture* n° 30. pp 203-210.

SCHROEDER G.L., 1983. Sources of fish and prawn growth in polyculture ponds as indicated by δC analysis. *Aquaculture* n° 35. pp 29-42.

SCHROEDER G.L., 1983. The role of natural foods in *Tilapia* growth: a study based on stable isotope analyses. In: FISHELSON L. et YARON Z. (Eds) *Actes de l'International symposium on Tilapia in aquaculture tenu à Nazareth du 8 au 13 mai 1983*, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel. pp 313-322.

SECOR D.H., DEAN J.M., LABAN E.H., 1992. Otolith removal and preparation for microstructural examination and analysis. In: D.K STEVENSON et S.E. CAMPANA (Eds) *Otolith microstructure examination and analysis*. Canadian special publication of fisheries and aquatic sciences n° 117. pp 19-57.

TAKEUCHI T., WATANABE T., SATOH S., IDA T., YAGUCHI M., 1987. Changes in proximate and fatty acid compositions of carp fed low protein-high energy diets due to starvation during winter. *Nippon Suisan Gakkaishi* n° 53 (8). pp 1425-1429.

TUCKER C.S., VAN DER PLOEG M., 1999. Managing off-flavor problems in pond-raised catfish. SRAC publication n° 192. 8 pages.

VIOLA S., MOKADY S., BEHAR D., COGAN U., 1988. Effects of polyunsaturated fatty acids in feeds of tilapia and carp. 1. Body composition and fatty acid profiles at different environmental temperatures. *Aquaculture* n° 75. pp 127-137.

WORTHINGTON R.E., LOVELL R.T., 1973. Fatty acids of channel catfish (*Ictalurus punctatus*): variance components related to diet, replications within diets, and variability among fish. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* n° 30. pp 1604-1608.

ZENEBE T., AHLGREN G., BOBERG M., 1998. Fatty acid content of some freshwater fish of commercial importance from tropical lakes in the Ethiopian rift valley. *Journal of Fish Biology* n° 53. pp 987-1005.

TADESSE Z., AHLGREN G., GUSTAFSSON I-B., BOBERG M., 1998. Fatty acid and lipid content of *Oreochromis niloticus* L. in Ethiopian lakes – dietary effects of phytoplankton. *Ecology of Freshwater Fish* 1998 n° 7. pp 146-158.

DOCUMENTS INTERNET

TUCKER C.S., VAN DER PLOEG M., 2004. Managing off-flavor problems in pond-raised catfish. Southern Regional Aquaculture Center, 22 mars 2004, <http://www.msstate.edu/dept/srac/>.

TRACEFISH, 2002. Traceability of fishery products-specification on the information to be recorded in farmed fish distribution chains. Référentiel du comité technique du Comité européen de la Normalisation. <http://www.tracefish.org/>